ИЗВЕСТИЯ АКАДЕМИИ НАУК СССР

ОТДЕЛЕНИЕ МАТЕМАТИЧЕСКИХ И ЕСТЕСТВЕННЫХ НАУК

СЕРИЯ БИОЛОГИЧЕСКАЯ

BULLETIN DE L'ACADÉMIE DES SCIENCES DE L'URSS

CLASSE DES SCIENCES MATHÉMATIQUES ET NATURELLES

SÉRIE BIOLOGIQUE

№ 4

ИЗДАТЕЛЬСТВО АКАДЕМИИ НАУК СССР

Москва ★ 1936

Напечатано по распоряжению Академии Наук СССР
Непременный секретарь академик Н. Горбунов

ИЗВЕСТИЯ АКАДЕМИИ НАУК СССР. 1936
BULLETIN DE L'ACADÉMIE DES SCIENCES DE L'URSS

Classe des sciences mathématiques et naturelles

Отделение математических и естественных наук

А. Н. БАХ

БИОЛОГИЧЕСКОЕ И ТЕХНОЛОГИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ФЕРМЕНТАТИВНЫХ ПРОЦЕССОВ [1]

В основе главнейших жизненных явлений лежат химические процессы, катализируемые ферментами. Этим обусловлен тот исключительный интерес, который возбуждает изучение ферментов. Обратимость ферментативного действия зависит не от объемных концентраций субстрата, а от тех концентраций, которые имеют место на несущих фермент поверхностях. Важным с общебиологической точки зрения является изучение ферментативных синтезов, в особенности в живой клетке. Большой интерес представляет изучение ферментативного комплекса, обусловливающего фиксацию азота у некоторых микроорганизмов. С этим связаны ведущиеся исследования по превращению глюкозы в щелочной среде в присутствии катализаторов. Исключительное значение имеют ферменты в технологии ряда пищевых производств.

Цель доклада — выявить общие линии научно-исследовательской деятельности как теоретической, так и практической Института биохимии, созданного год тому назад в недрах Биологической группы Академии Наук, и вместе с тем дать краткий обзор тех работ, которые были сделаны в течение истекшего года в этом институте.

В основе жизненных явлений — дыхания, питания, роста, размножения — лежат процессы химического превращения веществ, главным образом органической природы, входящих в состав живой клетки. Эти органические вещества (белки, углеводы, жиры), которые в организме претерпевают очень быстрые превращения, вне организма являются значительно более устойчивыми. Из этого следует, что вне организма эти вещества не встречаются с теми факторами, действие которых обусловливает их быстрое превращение. Эти факторы принадлежат к категории так называемых биологических катализаторов, ферментов или энзимов, систематическое исследование которых было начато больше 100 лет тому назад и продолжается до сих пор. Несмотря на вековую исследовательскую работу до сих пор о ферментах мы знаем очень мало, мало знаем об их химической природе, мало знаем о сущности их специфических свойств. С конца прошлого века, после того как школой Вильгельма

[1] Доклад, сделанный на заседании Биологической группы Академии Наук СССР 27 января 1936 г.

Оствальда вопрос о ферментах был поставлен на почву катализа и коллоидной химии, почти все энзимологи обращали исключительное внимание на химическое и физико-химическое изучение ферментов, оставляя несколько в тени их действие в самом организме. Между тем действие фермента изолированного, более или менее очищенного, переведенного в водный раствор, действие того препарата, который мы изучаем путем всяких физико-химических операций, значительно отличается от действия того же фермента в живом организме. Как показали опыты А. И. Опарина, значительная часть каждого из ферментов живой клетки находится в адсорбированном состоянии на коллоидных частях, на коллоидных системах. Поскольку эти ферменты адсорбированы они неактивны с точки зрения гидролитического действия, т. е. эти ферменты не действуют на свои субстраты в смысле разложения этих субстратов на более простые части; но вместе с тем обнаружено, что в этих условиях выявляется обратимость действия ферментов, т. е. превращение продуктов гидролиза в первоначальный субстрат. Таким образом активность ферментов в живой клетке зависит в значительной степени от того состояния адсорбции, в котором они находятся; все то, что содействует освобождению ферментов из их адсорбированного состояния, их переводу из адсорбированного состояния в свободное, из макрогетерогенного в микрогетерогенное состояние, содействует процессу распада; все то, что действует в противоположном направлений помогает обратному процессу, процессу синтеза. Вот эти соображения о характере действия ферментов в живой клетке легли в основу одного из основных направлений в работе нашего Института биохимии. Работы эти начаты А. И. Опариным и его группой несколько лет тому назад. В текущем году в порядке плановой работы в нашем институте выполнен ряд исследований, которые приносят чрезвычайно ценные экспериментальные подтверждения тем взглядом, которые были высказаны о характере деятельности ферментов в живой клетке. Работами А. Курсанова о синтезе сахара в живых листьях было показано, что путем искусственного введения в живой лист раствора инверта или сахарозы можно изучать положение равновесия между указанными монозами и биозой в условиях живой клетки. Введение в лист препарата живой инвертазы лишь ускоряет наступление равновесия, но не смещает его. Напротив, такого рода воздействия, как например, завяливание, действие наркотиков и т. д. смещают это равновесие в сторону гидролиза. Проф. Д. Михлиным была выполнена работа по синтезу молочного сахара из глюкозы и галактозы препаратом фермента из молочной железы и установлены интересные закономерности, касающиеся синтезирующего и гидролизирующего действия этого фермента. [1]

[1] Все цитированные работы помещены в настоящем выпуске.

Другим направлением исследовательской работы Биохимического института является работа о роли окислительно-восстановительных ферментов в живой клетке. Вопросом об окислительно-восстановительных процессах и катализаторах, которыми они управляются, я занимаюсь уже несколько десятков лет. Когда 15 лет назад А. Опарин вступил в сотрудничество со мной, он как-раз занялся изучением этих процессов. В течение всего этого времени, которое прошло с тех пор, он не терял эти явления из виду в связи в вопросом о роли пигментов в процессе дыхания. Когда у нас в Союзе стало развиваться производство чая из чайного листа, А. И. Опарин в контакте с Институтом чайного хозяйства и со всеми заинтересованными организациями поставили там ряд работ частью на местах, частью в пределах Института. Содержание этих работ изложено в статье А. И. Опарина. Я укажу здесь только, что в основном чайное производство покоится на окислительных процессах, поэтому-то предшествующее углубленное исследование этих процессов позволило Опарину сравнительно быстро разобраться в весьма сложной картине тех явлений, которые имеют место при производстве чая. В результате этих работ были установлены определенные методы механической обработки чайного листа. Должен сказать, что вопрос о технологическом процессе в этой отрасли производства изучен чрезвычайно слабо. Даже за границей, в капиталистических странах, все эти процессы не вышли еще из стадии первобытной техники. Такой крупный специалист, как Манн, указывает, что ни в одном производстве технологическая сторона так слабо не обоснована, как в чайном производстве.

В связи с изучением биокаталитических окислительно-восстановительных процессов стоят работы, которые были поставлены мной в сотрудничестве с З. В. Ермольевой о биологическом связывании атмосферного азота в условиях обыкновенной температуры и давления. Вопрос этот представляет огромный интерес вот с какой точки зрения. Присматриваясь к тем технологическим процессам, которые до некоторой степени могут быть сравниваемы с биологическими, мы констатируем, что в то время, как живая клетка чрезвычайно экономно обращается с источниками энергии, техника тратит источники энергии довольно широко. Возьмем в частности вопрос о связанном азоте. Для того чтобы связать атмосферный азот с водородом и превратить его в аммиак техника требует давления в 1000 атмосфер и температуры в несколько сот градусов. Между тем живая клетка использует для этой цели то сравнительно ничтожное количество энергии, которое она получает при окислении прибавленной в культуру бактерий глюкозы или маннозы. Она осуществляет этот процесс при обыкновенной температуре и обыкновенном давлении. Кроме того в технике водород, который присоединяется к азоту, получается особо и это — процесс, который требует еще дополнительной затраты энергии. Живой организм, живая клетка должны

сами получить в свободном виде тот водород, который они соединяют с азотом для получения аммиака.

В чем коренная причина этой разницы? Почему живой организм, живая клетка могут осуществлять путем сравнительно небольшой затраты энергии такие химические реакции, которые в технике требуют огромных затрат (в технике жгут топливо, превращают его в пар, пар превращается в движение, движение — в химическую энергию и т. д. и т. д.)? Так как мы не стоим на точке зрения каких-либо виталистических объяснений, то единственная рабочая гипотеза в объяснении этого явления заключается в том, что живая клетка обладает способностью использовать энергию, которая освобождена в процессе реакции, использовать эту энергию до ее вырождения в тепло, использовать энергию как концентрированную химическую энергию, дающую действительно возможность осуществлять реакции, которые в технике требуют очень высокого напряжения. Вот эта коренная проблема, интересующая и биологию и биохимию и физическую химию, вот эта проблема меня давно волновала и интересовала, и в качестве подхода к ней я как-раз и остановился на процессе связывания азота. Почему именно на этом? Прежде всего все сведения, которые мы имеем в настоящее время, указывают на то, что в живых клетках не сама клетка как единое живое целое является фактором, обусловливающим все эти энергетические изменения, а обусловливающим фактором являются те ферменты, те биокатализаторы, которые ускоряют химические реакции клетки. Следовательно представлялась интересной возможность из бактерии выделить те активные ферменты, те биологические катализаторы, благодаря изучению которых можно было бы получить сведения о химических и физико-химических процессах, которые происходят как-раз при связывании азота. Затем, конечно, определяющим фактором являлась и практическая сторона этого процесса.

В сотрудничестве с Ермольевой и Степаньян была поставлена работа в Институте имени Баха, который в настоящее время перешел в ведение ВИЭМ, и там было установлено, что путем бухнеровского метода можно извлекать из культур азотобактера соки, которые не содержат никаких жизненноспособных элементов, но могут связывать атмосферный азот, превращая его в аммик, если им дать в качестве источника энергии глюкозу или маннозу. С перенесением этой работы сюда, развитие ее значительно задержалось. Главной причиной этой задержки является тяжелая болезнь З. В. Ермольевой, которая была движущей силой этой работы. Второй причиной было то, что с перенесением этой работы сюда довольно сильно задержалось оборудование лаборатории по независящим от нас причинам. Но теперь работа началась. Ее ведет Максимова и я надеюсь, что работа в скором времени развернется в достаточно широком масштабе, чтобы осуществить свою основную цель, а именно выработать метод получения активного препарата, кото-

рый дал бы возможность приступить к более широкому изучению отдельных фаз связывания азота.

Если с точки зрения микробиологической эта работа в течение истекшего года не дала желаемых результатов, то тем не менее на ее основе была проведена интересная работа в Карповском институте, которая проливает совершенно новый свет на один из коренных вопросов обмена веществ в живой клетке. Дело заключается в следующем. Исследование различных ферментных препаратов показало, что те препараты, которые давали меньше аммиака, в процессе своего действия выделяли водород, если к ним добавляли глюкозу. Это было проверено на ряде опытов. Возник чрезвычайно интересный вопрос, откуда берется этот водород. Это было тем более интересно, что давало возможность подойти к вопросу о том, как живая клетка может располагать водородом, который она извлекает из воды.

Я поставил предварительные опыты в Карповском институте, заменив ферментный препарат платиновой чернью, которая, как известно, является универсальным катализатором. И что же оказалось? Оказалось, что если прибавить к раствору глюкозы платиновую чернь в слабощелочном растворе и пропускать воздух, то в некоторых случаях идет частичное поглощение кислорода, а затем начинается выделение водорода и, чем быстрее идет реакция окисления, т. е. чем платина активнее, тем скорее, тем больше выделяется водорода. Я привлек к этой работе хороших сотрудников — Алексееву и Древинг — и мы подвергли эти реакции основательному всестороннему изучению. Прежде всего мы поставили опыты в высоком вакууме, в абсолютном отсутствии кислорода. Оказалось, что если даже в этих условиях обрабатывать глюкозу щелочной и платиновой чернью, то выделяется водород. При этом, конечно, мы произвели целый ряд опытов, с полным учетом продуктов реакции. Оказалось, что при действии платины в указанных условиях в высоком вакууме выделяется водород. Скажем, когда брали около 10 г глюкозы, выделялось 230—240 мл водорода.

В газе ничего кроме водорода не оказалось, не было ни следа углекислоты. Исследование продуктов реакции показало, что почти половина исчезнувшей при реакции глюкозы превратилась в глюконовую кислоту; никаких других, летучих или нелетучих, кислот в смеси не было найдено. Но зато здесь было обнаружено значительное количество продукта восстановления глюкозы — сорбита. Сорбита образовалось примерно две трети от количества найденной в смеси глюконовой кислоты. Само собой разумеется, что как глюконовая кислота, так и сорбит были выделены по всем правилам углеводной техники. Если подсчитать количество водорода, то оказывается следующее. Водорода выделяется как-раз столько, сколько его необходимо, чтобы путем восстановления непрореагировавшей глюкозы сравнять количества глюконовой кислоты и сорбита, сделать их эквивалентными. Другими словами,

изменение глюкозы под действием платиновой черни, т. е. первая фаза превращения глюкозы, заключается в том, что гидроксил окисляет молекулу глюкозы в глюконовую кислоту, в то время как другая молекула глюкозы водородом воды восстанавливается в сорбит. Должен сказать, что на основе опыта я установил, что в таких реакциях процесс восстановления идет гораздо медленнее процесса окисления. Если вы возьмете формальдегид, то он в присутствии слабых щелочей превращается в муравьиную кислоту и метиловый спирт. По мере увеличения концентрации щелочи происходит такое явление, что муравьиная кислота образуется очень быстро, но выделяющийся водород не успевает превращать альдегид в метиловый спирт и выделяется в виде газа. Получается такая картина, что образующаяся муравьиная кислота эквивалентна количеству образовавшегося метилового спирта плюс выделившийся водород: иначе говоря, получается то же явление, которое мы наблюдаем при превращении глюкозы.

Описанную реакцию мы изучили с разных сторон: с точки зрения влияния концентрации щелочей, с точки зрения влияния концентрации катализатора, с точки зрения температуры и т. д. Тут очень интересно и то, что когда мы ведем реакцию в высоком вакууме при температуре 15—25°, то получается так, как я рассказывал, т. е. получается глюконовая кислота, сорбит и такое количество водорода, какое должно быть потреблено для того, чтобы сорбит был эквивалентен глюконовой кислоте. Если мы ведем реакцию при 45°, картина меняется. Продукты распада получаются другие. Должен сказать, что в литературе по вопросу о действии платины на глюкозу и вообще на углеводы есть только одна работа Виланда, который в связи со своей теорией дегидрирования проверял действие палладия на глюкозу при нагревании, причем он брал на 3 г глюкозы 12 г палладия, так что собственно было неизвестно, что у него является катализатором — палладий или глюкоза. Он получил также выделение водорода и целый ряд продуктов разложения, которые он не изучал. Это единственное указание в литературе по вопросу об образовании водорода из углеводов.

Кроме глюкозы мы поставили опыты с другими альдозами с галактозой и арабинозой, и получили абсолютно тождественные результаты, т. е. в условиях мягкого воздействия — высокого вакуума и обыкновенной температуры — мы получили реакции, приводящие к образованию продуктов восстановления субстрата и продуктов его окисления. Должен сказать, что несколько лет тому назад Мюллер открыл так называемую «глюкооксидазу», т. е. такой окислительный фермент, который, по его мнению, окисляет глюкозу только в глюконовую кислоту, не давая других продуктов. Так как он не искал продуктов восстановления, он их не нашел. Он нашел только глюконовую кислоту. Но эта глюконовая кислота происходит не от кислородного окисления глюкозы, а от первичной реакции распада, о которой я говорил.

Мы в самое последнее время поставили опыты над окислением глюкозы в тех же условиях концентрации гидроксильного иона, но в атмосфере кислорода. Мы пропускали кислород через щелочной раствор глюкозы в присутствии платиновой черни и тут мы нашли сорбит и газообразный водород.

Итак, те опыты, которые мы проводим и которые всякий грамотный человек может повторить, показывают, что в первой фазе не происходит распада молекулы глюкозы на триозы, а происходит лишь разрыв того кислородного мостика, который соединяет первый и пятый атом углерода; при этом образуется истинный альдегид, который подвергается реакции катализатора за счет элементов воды. За счет гидроксила он окисляется в глюконовую кислоту и за счет водорода восстанавливается в сорбит. Некоторая доля водорода выделяется в молекулярном состоянии.

Мы проделали те же опыты с фруктозой. Мы выделили из продуктов окисления фруктозы арабоновую кислоту, выделили метиловый спирт и небольшое количество муравьиной кислоты, так что и тут в первую очередь происходит передвижение элементов воды.

Я должен напомнить ту великую идею, которую А. Байер высказал в 1871 г., именно, что в биохимических процессах, в процессах брожения и т. д. происходит то, что он называл «Wasseranlagerung», т. е. передвижение элементов воды — гидроксила и водорода. Уже давно указывалось на то, что в процессе дыхания, анаэробиотические процессы предшествуют окислительным процессам, где участвует кислород.

Вот теперь я лично вынужден притти к тому заключению, что это соображение безусловно правильно в том отношении, что действительно первый акт распада углевода заключается не в том, что он распадается на триозы, а в том, что он посредством передвижения элементов воды превращается в продукты восстановления и продукты окисления.

Должен еще указать на следующее. Те опыты, о которых я вам рассказывал, интересны с более широкой философской точки зрения.

Наш уважаемый коллега, академик Вернадский, недавно очень обстоятельно развил и обосновал тот взгляд, что свободный кислород в земной атмосфере произошел лишь в результате действия растений, что жизнь на земле началась раньше, чем появился свободный воздух. Повидимому, первоначальной формой жизни на земле был анаэробиоз. У нас сейчас принято считать, что анаэробиоз это регрессивное явление и что настоящая жизнь связана с окислением кислородом. В свете того коренного факта, который приводит академик Вернадский, в свете того, что первым актом жизни является анаэробиоз, нужно думать, что анаэробиоз не продукт регрессивной эволюции, а начальный этап эволюции и жизни на земле.

В связи с этими работами я укажу еще на одну группу работ, которая стоит несколько в стороне от других. Она касается вопросов применения биокаталитических методов исследования к явлениям генетики, которыми я лично не занимался, но которые входят в план работ нашего института.

Вопрос состоит в следующем. Лет 10 тому назад я выработал метод определения фермента каталазы в капле крови. Одна из моих сотрудниц С. Елизарова попросила меня, чтобы я познакомил ее с этим методом. У меня в лаборатории она под моим непосредственным руководством изучила его, а затем в Институте экспериментальной биологии поставила ряд работ по исследованию показателей этого фермента в крови морских свинок. Нужно сказать, что этот метод удобен тем, что он позволяет делать массовые анализы, не беспокоя много раз животное.

Елизарова установила следующие очень интересные факты. Оказалось, что морские свинки распадаются на три группы, у которых показатели этого фермента относятся друг к другу как 1:2:3. Эти показатели ферментов передаются по наследству в пределах группы и при скрещивании разных групп менделируют.

Эту работу она напечатала в 1926 г. В 1930 г. знаменитый энзимолог Эйлер напечатал работу, из которой явствует следующее. Изучая ячмени, он нашел абсолютно те же закономерности, что и Елизарова.

Разные разновидности ячменя имеют каталазные показатели, которые относятся как 1:2:3 и при скрещивании не дают потомства. Когда я узнал об этом, я попросил Елизарову, чтобы она написала Эйлеру. Он ей ответил очень милым письмом, в котором говорит, что он не знал ее работы. Фактически за Елизаровой числится заслуга открытия того, что показатель ферментов может быть наследуемым.

Вот направления тех работ, которыми мы занимались с точки зрения теоретической.

Но мы не упускали из виду и целого ряда вопросов прикладного характера. Я уже указывал, что А. И. Опарин, изучая окислительно-восстановительные процессы «in vitro», пришел к изучению этих же процессов в чайном производстве, где они играют решающую роль. Ведь получение чая из чайного листа основано исключительно на окислительно-восстановительных процессах. Но об этом вам здесь доложит сам А. И. Опарин.

Затем, мы, много работая над такими ферментами, как амилаза и др., натолкнулись на ту мысль, что эти ферменты должны играть громадную роль в биохимических производствах, в ряду которых на первом месте стоит производство хлеба. Нужно сказать, что производство хлеба в нашей стране это такое производство, равного которому нет нигде в мире. Достаточно сказать, что наша страна производит ежедневно около 150 млн. кг хлеба для того, чтобы удовлетворить колоссальные потребности населения.

Но если мы обратимся к научной основе производства хлеба, то мы должны констатировать, что это производство еще пребывает в состоянии первобытной эмпирии. Если мы взглянем на историю процесса хлебопечения, то мы увидим, что совершенствуются месильные машины, механизируется подача теста в печь и т. д., но химизм процесса, его биохимическая основа остается совершенно в стороне. Поэтому мы считаем, что пора биохимии, в частности нашему институту, стать поближе к этому производству с целью замены первобытной эмпирии научной методикой. Ведь сейчас научно обоснованного технического контроля в хлебном производстве нет; сырье не стандартизовано; оно стандартизуется в том отношении, что хорошие практики смешивают разного рода муку (эта так называемая валка), но они руководствуются при этом своей интуицией, а не научными данными.

Нужно сказать, что акад. Надсон, глава Микробиологического института нашей группы, предложил нам свое участие в этом деле. Мы крайне охотно приняли это предложение, потому что в основе производства печеного хлеба лежат два фактора: фактор микробиологический и фактор энзимологический. Мука содержит все те ферменты, которые содержит зерно. И эти ферменты в зависимости от условий производства, в зависимости от их предварительной истории могут играть положительную и могут играть отрицательную роль, и между этими двумя факторами — фактором микробиологическим и фактором энзимологическим — должна быть установлена тесная координация. Мука может быть очень хорошей с точки зрения энзимологической, но микробиологический фактор может не подходить к ее энзимологическим свойствам, и обратно.

О работах в области хлебопечения более подробно вам расскажет А. Островский.

Кроме этой отрасли промышленности к нам обращаются с целым рядом других практических вопросов.

Мы начинаем работу, связанную с производством глицерина и т. д. Должен только сказать вот что: мы биохимики в отношении производства находимся в благоприятных условиях, потому что все биохимические производства, которые в народном хозяйстве играют очень видную роль, не вышли еще из состояния первобытного эмпиризма. Поэтому мы, интересуясь теоретическими вопросами, вопросами природы и действия ферментов, невольно наталкиваемся на такие вопросы, которые очень живо интересуют производство. В этом отношении мы конечно в гораздо лучшем положении, чем, скажем, институт физической химии. Он тоже имеет очень крупные проблемы, но производственника им надо долго толкать, пока он этими проблемами заинтересуется.

Из этого вытекает что центральным стержнем работы института является изучение биологического катализа и использование наших

знаний в этой области для разрешения коренных вопросов биологии и технологии. Этим определяются задачи нашего института. Но одного этого еще недостаточно для определения его лица. Я хочу остановиться несколько на отношении между теорией и практикой в работах всех исследовательских институтов и в частности нашего.

Вопрос этот заострен. Мы лично стоим на той точке зрения (это общая точка зрения), что наука вытекает из потребностей производства. Вся история науки, в частности химии, нагляднейшим образом доказывает, что наука развивается в тесной и непрерывной связи и взаимодействии с производством. Производство ставит проблемы перед теоретической мыслью. Теоретические исследования наталкиваются на такие явления, которые воздействуют на производство.

В этом отношении очень интересно то, что было некогда сказано великим Пастером. Пастер, как известно, в начале своей деятельности был крупным физиком. Он первый открыл оптические свойства органических соединений. Враги Пастера упрекали его в том, что он, крупный теоретик, занялся вдруг лечением шелковичных червей, которых он никогда в глаза не видел, и целым рядом других прикладных вопросов, в которых он ничего не смыслил. Пастер им на это ответил, что нет никаких прикладных наук, а есть наука и ее применение. Этот великий исследователь природы, человек совершенно другого мировоззрения, чрезвычайно далеко отстоящий от нас, был приведен к стихийному материалистическому пониманию мира. Должен сказать, что у нас есть еще очень много хороших исследователей, научных работников, которые также считают, что нельзя теоретическую науку путать с прикладными науками, что теоретическая наука — это одно, а производство — это другое.

Мы категорически возражаем, против этого. Мы считаем, что в стране социалистического строительства теоретическая наука должна итти на помощь практике, потому что перед нашей страной стоят еще великие и трудные задачи, и нет никакого сомнения, что в тот или другой момент нам придется бороться с врагами. И поэтому наша обязанность — обязанность теоретической науки — всемерно содействовать развитию практического ее применения.

Если взять еще современное движение — стахановское, — которое выявило огромнейшую производительность нового труда, то нет никакого сомнения, что на нас, работниках науки и техники, лежит обязанность всемерно содействовать поднятию устарелых технологических процессов до уровня новой динамики труда. Только в тесном единении, я скажу, в слиянии науки с трудом лежит залог успеха, залог победы.

A. N. BACH. BIOLOGICAL AND TECHNOLOGICAL IMPORTANCE OF THE FERMENTATIVE PROCESSES

SUMMARY

1. At the basis of all the principal life phenomena — respiration, nutrition, growth, reproduction and the like — lie chemical processes, the transformation of those substances which enter into the composition of living cell.

2. Although the organic substances of the living cell possess great chemical possibilities and are able to react among themselves in the most varied ways, still these reactions take place, outside the cell, exceedingly slowly. If they took place at the same rate within the cell, the vital processes would be quite impossible.

3. The reason that the life phenomena procede so impetuously lies in the presence, in the living cell, of specific catalyzers (enzymes) which determine, by their action, not only the speed but the general direction of the biochemical processes.

4. The great biological significance of the ferments has led to numerous investigations in this field. But during the last ten years these investigations have been directed principally to a chemical and physico-chemical study of ferments independently of their biological rôle.

5. However, in aqueous solutions of more or less purified preparations of enzymes the action of these catalyzers differs from that within the living cell. Here, as the investigations of A. I. Oparin have shown, a considerable percentage of the general quantity of this or the other enzyme is in an adsorbed condition; consequently, it acts on the surface and not in the volume. As a result, the direction of fermentative reactions is determined, not by the volume concentrations of the substrate, but by the concentrations existing on the enzyme carrying surfaces. It is necessary to reckon with these considerations when studying the question of the reversibility of the action of enzymes in the living cell.

6. It is an exceedingly important circumstance that in the living cell the energy generated during certain fermentative reactions can be used for further transformations before it degenerates into heat. The most outstanding example of this is the fixation of atmospheric nitrogen by soil bacteria. We are carrying on investigations from this angle which are devoted on the one hand, to a study of the fermentative apparatus of the bacteria mentioned and, on the other hand, to a study of the catalytic oxidation of the carbohydrates.

7. The study of the fermentative processes has, along with its biological importance, a very great technological one as well.

In a number of industries (as, for example, the breadbaking, the preparation of tobacco, tea, etc.) the living cells of the substances that serve as raw materials, are destroyed (by grinding, rolling, dessication

and the like), while the enzymes contained in them are not affected by the process. It is precisely as the result of the action of these enzymes in the half-products of industry (dough, fermenting tobacco or tea, and so on) that there occur those chemical changes in the raw material which are the aim of the technological processes and as a result of which are produced those qualities of the finished product that are esteemed by the consumers (better assimilability, taste, aroma and so forth). Thus, only on the foundation of a deep understanding of fermentative phenomena can we really control the technological process in a rational way and be sure of obtaining a product of high quality.

ИЗВЕСТИЯ АКАДЕМИИ НАУК СССР. 1936
BULLETIN DE L'ACADÉMIE DES SCIENCES DE L'URSS

Classe des sciences mathématiques et naturelles

Отделение математических и естественных наук

Д. МИХЛИН

ФЕРМЕНТАТИВНЫЕ СИНТЕЗЫ[1]

(*Представлено академиком* **А. Н. Бахом**)

Важным фактором синтетического действия ферментов является концентрация их на активных клеточных поверхностях, что способствует смещению направления действия ферментов в сторону синтеза. Осуществленный энзиматический синтез молочного сахара изучается с различных сторон. Выяснилось влияние гидратации на действие синтезирующего ферментного комплекса. Получены растворы лактазы, которые энергично синтезируют молочный сахар, но электролиты не оказывают здесь действия. Возможно получение молочного сахара из глюкозы.

Роль ферментов в образовании клеточных веществ ограничена теми реакциями, которые не связаны со сколько-нибудь значительным повышением потенциала.

Как следует из основных законов катализа, в том числе и биологического, фермент не в состоянии вызвать реакцию, которая термодинамически сама по себе невозможна.

Основные процессы ассимиляции углекислоты в растениях идут без участия ферментов. Только в обратимых реакциях фермент, по точному смыслу катализа, может ускорять достижение равновесия в обоих направлениях реакции.

К такого рода реакциям относятся образование жиров, белков и углеродов из промежуточных соединений. Казалось бы, что ферменты, которые в изолированном и даже хорошо очищенном виде в экспериментальных условиях легко и энергично разлагают упомянутые основные вещества клетки, должны всегда в этих же условиях обнаруживать свои синтезирующие способности. Тем не менее за 35 лет, прошедших со времени первого экспериментального синтеза, произведенного Крофт Хиллом (Croft Hill) в этой области, может быть отмечен лишь очень незначительный прогресс, в особенности по сравнению с изучением деструктивной стороны многочисленных, открытых до сих пор ферментов.

Лучше всего здесь обстоит дело с синтезирующей способностью эстераз. Несмотря на часто наблюдаемое отсутствие при этих синтезах

[1] Доложено на заседании Биологической группы 27 января 1936 г.

истинного термодинамического равновесия, все же, как показал значительно раньше Армстронг и в последние годы Рона со своими сотрудниками, синтезы сложных эфиров в лабораторных условиях достигаются с большой легкостью. Равновесие устанавливается при этом довольно близкое к тому, которое получается при гидролизе.

Ферментативный ресинтез жира в животном организме, например в кишечной стенке, не вызывает сомнений в настоящее время.

Синтез белков из пептидов и даже из аминокислот тоже не связан со сколько-нибудь значительными энергетическими сдвигами. Между тем только в последние годы рассеялись сомнения в химическом, а следовательно и ферментативном характере образования так называемых пластеинов из пептонов и альбумоз под действием пепсина. Это пока единственное, что с достаточной ясностью после многочисленных усилий установлено в отношении ферментативного синтеза белка. Если принять во внимание число изолированных идентифицированных до сих пор протеаз и пептидаз, станет ясным, что мы находимся в этой области в самом начале длинного и весьма сложного пути.

Остается вопрос об углеводах.

По энергетическим соображениям здесь можно было ожидать обратимости действия таких ферментов, как амилазы и карбогидразы, хорошо изученных и ускоряющих реакции гидролиза без особенно чувствительных энергетических изменений.

Среди ферментов этой группы большинство, как-то: амилаза, сахараза, мальтаза и другие, обнаруживают в экспериментальных условиях очень большую активность. Между тем число установленных здесь экспериментальных синтезов очень невелико. Экспериментальный синтез крахмала не доказан.

Синтез гликогена связан с целым рядом сопряженных в энергетическом смысле реакций.

Легче всего воспроизводится синтез мальтозы по Croft Hill'у. Но и этот процесс осложняется одновременным образованием продуктов, истинная природа которых еще далеко неясна, как например, ревертоза, изомальтоза и т. п. То же самое относится к изолактозе Фишера и к длинному ряду галактозидов, синтезированных Буркло (Bourquelot). Все эти вещества не могут рассматриваться как продукты обратимого действия известных нам ферментов. Синтез сахарозы был получен лишь после длинного ряда безуспешных попыток. Что касается лактозы, то ферментативный синтез ее до последних лет считался даже невозможным.

Естественно, что синтезирующая роль ферментов, недоказанная опытом, стала подвергаться сомнениям. Эти сомнения были высказаны довольно давно Бредли (Bradley), который пытался оправдать их экспериментальными данными. Сомнения Бредли были восприняты Оппенгеймером (Oppenheimer), который еще в 1926 г., подведя итоги работам

по ферментативному синтезу, крайне скептически отнесся к самому значению ферментов в построении веществ. Известно, с каким скептицизмом был в свое время встречен классический синтез Крофт Хилла. Буркло даже пытался доказать, что ферменты никогда не участвуют в синтезе тех веществ, которые они разлагают. Но Прингшейм (Pringsсheim, а также Кун (Kuhn) неопровержимо доказали наличие мальтозы в опыте Хилла. То же повторилось и в отношении тростникового сахара. Что же касается лактозы, то ее образование в животном организме и было выбрано как доказательство неферментативного характера этого процесса.

Только методические ошибки могли привести к укоренившемуся мнению, что в молочной железе нет лактозы и что следовательно образование молочного сахара не ферментативного происхождения. Впрочем, такой же взгляд держался и в отношении жира молока, пока Михлин и Запрудская не доказали на опыте возможности синтеза жира посредством активированных препаратов из молочной железы. Молочный сахар был экспериментальным путем получен Михлиным и Левитовым. Они могли, изучив все особенности углеводного обмена в молочной железе, проследить образование лактозы во времени и химическими, а также экзиматическим методами идентифицировать этот сахар. Таким образом экзиматический характер реакции образования молочного сахара был установлен — в противовес утверждениям о необратимости действия лактозы. Но остаются сомнения в физиологическом значении этих синтезов, которые производятся в условиях будто бы далеких от естественных.

Прежде всего здесь приходится думать о соответствии экспериментальных концентраций тем, какие имеют место в живом организме. Во всех экспериментальных синтезах употребляются концентрации, несоизмеримые с теми, которые аналитически определяются в тканевых жидкостях после коагуляции в них коллоидов. Но для положения равновесия в обратимых реакциях по закону действия масс имеют значение не абсолютные концентрации реагирующих веществ, а относительные. Поэтому в живой ткани, где продукты реакции быстро подвергаются дальнейшему изменению, отношение реагирующих веществ и при малых концентрациях может быть такое, какое устанавливается в условиях, когда вновь образующиеся продукты реакции не расходуются. Кроме того анализируемые концентрации не дают нам представления об истинных концентрациях, существующих на тех поверхностях, на которых происходят ферментативные реакции в живой клетке.

Роль коллоидов в установлении равновесия при обратимых реакциях была нами экспериментально доказана очень простыми приемами. Изменяя состояние набухания ферментного препарата, Михлин и Фетисова могли смещать подвижное равновесие при синтезе лактозы в ту или другую сторону. Стоит только предварительно, до опыта, довести ткань до

максимального набухания, как всякое синтетическое действие исчезает. Равновесие смещается в сторону полного гидролиза. Наоборот, электролиты в соответствии с их дегидратирующим действием способствуют синтезу.

В опытах с ацетоновыми препаратами, как показали Михлин и Бородина, направление процесса иное, чем в необработанном препарате. Но особенно показательна роль коллоидов в синтезах с экстрактами из молочной железы. Михлин и Бородина получили активные экстракты из молочной железы, при помощи которых удается доказать синтез лактозы. Образование этого сахара доказано не только изменением редукции, т. е. уменьшением восстановительной способности раствора вследствие соединения двух моносахаридов в дисахарид, но прямым изолированием галактозы после гидролиза смеси озазонов. Как известно, озазоны моноз гидролизу не подвержены. Восстановляющие вещества получаются только при гидролизе озазонов дисахаридов.

Полученный нами при сернокислом гидролизе озазона редуцирующий сахар может быть только галактозой. Образование дисахарида таким образом доказано. Всякие теории образования лактозы помимо галактозы могут, таким образом, считаться опровергнутыми. Получение синтеза с раствором фермента не оставляет места никаким необоснованным толкованиям. Но в то время как в измельченной ткани образующаяся лактоза снова гидролитически распадается по мере гидратации ферментного препарата и может быть стабилизирована посредством солей, в экстрактах вследствие удаления главной массы коллоидов, действие электролитов сказывается очень незначительно или вовсе не проявляется. Подобную же связь между набуханием коллоидов и равновесием наблюдали Михлин и Колесников в своих предварительных опытах по синтезирующему действию мальтозы, где роданистый аммоний, известный своим гидратирующим действием, задерживает синтез.

При ферментативном синтезе углеводов большие трудности связаны с тем обстоятельством, что в синтезируемых соединениях вещества находятся в структурной форме, которая с трудом получается в экспериментальных условиях или отличается крайней неустойчивостью. Среди углеводов число изомеров структуры особенно велико. Невозможность в экспериментальных условиях получить фруктозу в такой форме, в какой этот сахар находится в естественном состоянии, и которую принято считать фуранозной, служила препятствием для экспериментального синтеза тростникового сахара. В отношении синтеза лактозы дело осложняется еще тем, что в животном организме она образуется из глюкозы.

Правильно было бы признать предварительное превращение глюкозы в галактозу и соединение этой последней с другой молекулой глюкозы в молочный сахар. Между тем неудачи в воспроизведении этого процесса в экспериментальных условиях привели к созданию ошибочных, на наш взгляд, и не имеющих себе аналогий теорий об образовании лактозы не из галактозы, а из каких-нибудь других соединений, например из

мальтозы, из фруктозы и т. д. Превращение галактозы в глюкозу в животном организме — явление столь очевидное — не могло убедить биохимиков в возможности обратного превращения.

Весь этот процесс пытаются объяснить расщеплением галактозы до триоз, которые синтезируются в гликоген, дающий глюкозу. На этих и подобных теориях можно было и не останавливаться, если бы они не занимали доминирующего положения в объяснении образования лактозы в животном организме. В экспериментальном синтезе лактозы завершающим звеном явилось бы получение молочного сахара из глюкозы. Мы с О. Я. Бородиной подошли к решению этой задачи в предположении, что прежние неудачи, в том числе Михлина и Левитова, в этом вопросе основаны на невозможности в экспериментальных условиях превращения стабильной формы глюкозы в галактозу.

До сих пор мало известно об агентах, способствующих такому лабильному состоянию сахаров в животном организме. Но химическим путем можно, исходя из одной какой-нибудь монозы, получить при определенных условиях смесь изомеров или эпимеров, находящихся между собой в состоянии очень подвижного равновесия. По теоретическим расчетам Нефа (Nef), число таких соединений должно составлять 109 или еще больше. Не будем входить здесь в рассмотрение теоретических основ такого расчета, но несомненным является то, что в присутствии слабых щелочей или фосфатов, даже нейтральных, такое превращение имеет место. Исходя из этого экспериментально установленного факта, мы попытались получить лактозу из глюкозы, которая в продолжение месяца находилась в слабощелочном растворе фосфатов при комнатной температуре.

О том, что в таком растворе происходят изменения, свидетельствует изменение восстанавливающей способности. Мы считаем, что здесь образуются вещества, которые в присутствии железистой ткани могут служить материалом для построения лактозы. Насколько можно судить по нашим предварительным данным, это предположение оправдалось. Наблюдается изменение редукции и обратное возвращение к исходной величине точно таким же образом, как и при синтезе лактозы из глюкозы и галактозы. Гидролиз серной кислотой приводит к исходной величине. После сбраживания отфильтрованной жидкости промытыми хлебными или пивными дрожжами остается несбраживаемый сахар, гидролизуемый кислотой и дающий при этом процентное увеличение редукции, соответствующее гидролизу лактозы. Озазоны по форме сходны с лакто-озазоном. Самым веским доказательством в пользу лактозы может служить гидролиз полученного сахара эмульсином, который из несбраживаемых пивными дрожжами сахаров, насколько до сих пор известно, разлагает только молочный сахар. В остатке от брожения содержание его по вычислениям составляет 3—4%, но до сбраживания его было значительно больше. Возможно, что он разлагается в процессе сбраживания микроорганизмами.

Опыты по изолированию еще не закончены вследствие большой загрязненности получаемого продукта.

Теоретическое объяснение полученных нами фактов может быть основано только на предположениях. Действие щелочей и фосфатов на сахара, по некоторым предположениям, сводится к смещению кислородной связи, образующей замкнутую форму молекулы, например к превращению пиранозной формы в фуранозную, менее стойкую. Прямых доказательств этого перехода не существует. Возможно еще и другое объяснение. Оно в основном сводится к тому, что вследствие образования промежуточных нестойких соединений сахаров со щелочами или фосфатом равновесие среди изомеров смещается в сторону свободной альдегидной группы. Результатом образования этой так называемой нормальной формы глюкозы и будет ее энолизация. Нам кажется, что эта гипотеза, имеющая некоторые экспериментальные основания, может лучше объяснить переход глюкозы в галактозу. Если согласиться с Нефом, что диэнольная связь может быть не только между 1-ми и 2-ми углеродами, но что она может перемещаться по углеродной цепи, то диэнол 3-4 может служить общей переходной формой между глюкозой и галактозой по аналогии с переходом глюкозы в манозу. В крепких щелочах и в условиях живого организма такая молекула должна, как считают, распасться на триозы с образованием молочной кислоты. Но возможен и переход ее в галактозу, особенно когда в процессе синтеза молочного сахара галактоза будет по мере образования связываться и тем способствовать смещению равновесия в эту сторону. Образование диэнолов теперь не вызывает возражений. Диэнолы 2-3 доказаны Нефом. Существование диэнолов 3-4 с последующей эпимеризацией глюкозы в галактозу является также вероятным. Указание прежних исследователей на образование в молочной железе фруктозы вполне согласуется с нашим объяснением, так как энолизация сахаров связана с образованием кетонных форм.

Заключение

Экспериментальные ферментативные синтезы до сих пор доказаны лишь в отношении небольшого числа клеточных веществ. Среди трудностей в этой области следует отметить невозможность воспроизвести экспериментально те соотношения концентраций реагирующих веществ, которые в физико-химических условиях живой клетки ведут к синтезу. Обратимость действия лактазы тем не менее доказана как на измельченной молочной железе, так и на ацетоновых препаратах и на водных растворах фермента. Образующаяся лактоза снова подвергается гидролизу. Распад может быть замедлен посредством солей, уменьшающих гидратацию ткани. Но в растворах лактозы соли не влияют на обратный гидролиз. Образование лактозы в растворах фермента доказано получением редуцирующего сахара после гидролиза смеси озазонов. Синтез дисахарида доказывается также изменением редуцирующей способности раствора.

При длительном хранении глюкозы в слабощелочном растворе фосфатов удается после прибавления препарата молочной железы получить несбраживаемый дрожжами сахар, гидролизуемый эмульсином и дающий при этом увеличение редукции, соответствующее гидролизу молочного сахара. Очистка и изолирование этого продукта продолжается. По его отношению к дрожжам и по гидролизу можно его принять за лактозу. Высказывается предположение о возможности перехода активированной глюкозы в галактозу через энолизацию.

Институт биохимии.
Академия Наук СССР.

D. M. MICHLIN. FERMENTATIVE SYNTHESES

SUMMARY

The difficulties of accomplishing fermentative syntheses and the extremly limited number of such syntheses in comparison with the very great number of substances formed in the living organism have led to doubt concerning the importance of enzymes in the formation of such biologically important substances as fats, proteins and carbohydrates.

In reversible chemical reactions, the position of equilibrium is determined by the ratio of the concentrations of substances taking part in the reaction. Outside the organism it occurs but rarely that the concentrations can be attained which exist on the active surfaces within the living organism and which lead to a shifting of the equilibrium towards synthesis. The concentration of substances in the tissue liquids gives no idea of the concentration on the active surface where the chemical reactions take place.

Starting from the considerations set forth above, Michlin and Levitov were the first to succeed in shifting the equilibrium, in the action of animal lactase, toward the synthesis of milk sugar, which was identified by chemical and enzymatic means.

The importance of hydration with respect to the position of equilibrium during the formation of lactose was experimentally shown by Michlin and Fetisova. In a highly hydrated colloidal system, equilibrium is quickly shifted towards hydrolysis. Solutions of lactase are obtained which actively synthesize milk sugar. But, unlike the tissues, the electrolytes have here but little influence on synthesis or exert no influence whatever (Michlin and Borodina).

The ill success in accomplishing fermentative syntheses outside the organism is very often to be explained by the im possibility of obtaining or preserving that isomeric form of substance which alone is capable of entering into more complicated molecules. By bringing glucose into dynamic equilibrium with other monoses Michlin and Borodina obtained lactase from grape sugar by experimental means.

Every new fermentative synthesis has great theoretical importance, in as much as it proves experimentally the inevitability, for biological catalysis, of the general rule according to which in reversible reactions (and such comprise the majority of hydrolytic reactions in the organism) the catalyzer accelerates both directions of the reaction.

ИЗВЕСТИЯ АКАДЕМИИ НАУК СССР. 1936
BULLETIN DE L'ACADÉMIE DES SCIENCES DE L'URSS

Classe des sciences mathématiques et naturelles

Отделение математических и естественных наук

В. А. ЭНГЕЛЬГАРДТ

ОБРАТИМЫЕ И СОПРЯЖЕННЫЕ РЕАКЦИИ В ЭНЕРГЕТИЧЕСКОМ ОБМЕНЕ КЛЕТОК[1]

(*Представлено академиком* **А. Н. Бахом**)

На основании новейших исследований, обнаруживших целый ряд новых по своему типу энзиматических реакций в энергетическом обмене клетки, эти реакции можно разделить на обратимые и сопряженные реакции. Характерным для тех и других реакций является участие фосфорной кислоты. Источником энергии в клеточном обмене служат сопряженные реакции, среди которых большую роль играют те, в которых участвует фосфорная кислота. Превращения фосфагена имеют специальное значение для мышечной ткани, превращения аденозин-трифосфорной кислоты имеют более универсальное значение для ряда клеток. Важно сопряжение обмена аденозин-трифосфорной кислоты с фундаментальными клеточными процессами гликолиза и дыхания. В настоящее время энергетическая трактовка сопряжения и роли аденозин-трифосфорной кислоты, как ко-фермента получает строго химическое объяснение. Вероятно, подлинным субстратом биологического окисления являются фосфорные дериваты.

Углубленное изучение энергетического обмена клетки, развернувшееся в последние годы, главным образом, в отношении спиртового брожения и аноксидативных процессов в мышце, необычайно обогатило наши познания как о реальных промежуточных химических соединениях, возникающих при этих процессах, так и о химизме клетки в целом.

Эти исследования, принадлежащие в основном двум лабораториям — Мейергофа и Парнаса,— развернули перед нами необыкновенно интересную, пеструю и в то же время стройную картину этого клеточного химизма. Биохимия на огромный шаг продвинулась вперед по сравнению с тем моментом, когда Шейнбейн с правом и горечью мог говорить, что химик видит лишь начало и заключительный момент драмы, все действия которой протекают за спущенным занавесом. В настоящее время мы можем сказать, что занавес все чаще и чаще поднимается, все дольше остается поднятым, все больший отрезок действия протекает перед нашими глазами, мы видим новых участников этого действия знакомимся с их судьбой и все яснее и яснее начинает вырисовываться общая интрига — те закономерности, которыми движется все действие в целом.

[1] Доложено на заседании Биологической группы 27 января 1936 г.

Новые исследования в этих лабораториях принесли нам, с одной стороны, сведения о ряде новых химических веществ, возникающих в качестве промежуточных продуктов в процессе распада более сложных соединений и служащих исходным источником и запасом потенциальной химической энергии. В основном речь идет здесь об углеводах. С другой стороны, наряду с этим обогащением наших сведений о реальных химических промежуточных веществах мы имеем еще более неожиданное обнаружение ряда новых типов реакций, в которых участвуют эти вновь открытые промежуточные вещества.

Я не буду останавливаться на рассмотрении этих отдельных новых промежуточных продуктов. Они для нас представляют второстепенный интерес, и мы их будем касаться лишь попутно. Одно только следует подчеркнуть: все эти новые продукты являются фосфорилированными соединениями. Все разнообразие новых реакций, обнаруженных среди ступеней аноксибиотического распада углевода, обусловлено вхождением в органическую молекулу радикала фосфорной кислоты. Радикал фосфорной кислоты в совершенно необычайной степени повышает реакционную способность органической молекулы. В то же самое время он сам чрезвычайно подвижен и обнаруживает способность к перемещению не только в пределах одной молекулы, но и между разными молекулами. Эти свойства промежуточных продуктов должны, мне кажется, явиться интересным объектом для органика-теоретика при изучении вопроса о влиянии замещающих групп на реакционную способность тех или других химических группировок, а отсюда быть может получатся ценные выводы и для практического синтеза. Мне кажется я не ошибусь, если скажу, что до настоящего времени органик-синтетик был больше озабочен предохранением лабильных групп в процессе синтеза и сравнительно мало заботился о повышении реакционной способности той или иной группировки или связи путем введения соответствующих заместителей в других участках молекулы. Клетка же идет именно этим путем, и мне кажется, что биохимикам следовало бы привлечь внимание органиков к этому вопросу, призвать их к тому, чтобы поучиться у клетки, которая работает подчас несомненно более совершенными методами и путями, чем современная химия.

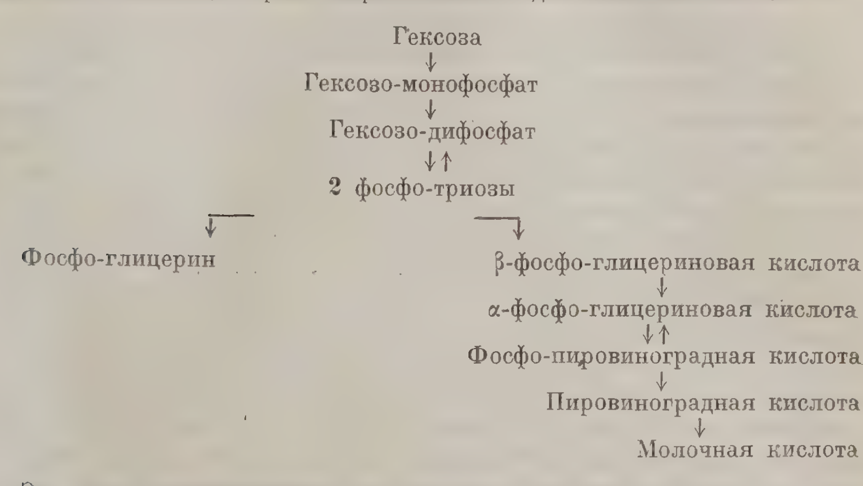
Каковы же те новые реакции, которые открыты в области клеточного обмена? Это, во-первых, ряд обратимых реакций, достигающих хорошо выраженного равновесия независимо от того, с какой стороны мы к нему подходим. Эти реакции существенно отличаются от ранее известных энзиматических процессов и поэтому выделение их в особую категорию является вполне обоснованным. Во-вторых, мы имеем новые типы сопряженных реакций, тоже существенно отличных от ранее известных.

Именно вторая категория сопряженные реакции — связана с экспериментальной частью моего доклада. Но я хотел бы бегло обрисовать

и первую категорию отчасти потому, что с некоторыми из этих реакций нам придется встретиться дальше, отчасти же для того, чтобы сопоставить и дополнить ими наши представления о классических, если так можно выразиться, обратимых энзиматических реакциях.

Все обратимые реакции, о которых сейчас будет итти речь, касаются как я сказал, фосфорилированных продуктов аноксибиотического распада углеводов. Открытию и изучению всех их мы обязаны лаборатории Мейергофа. Любопытно, что открывались они примерно в том же порядке, в каком они следуют одна за другой в цепи превращений молекулы углевода при спиртовом брожении или при гликолизе в животной клетке, в мышце.

Я прежде всего приведу здесь эту последовательность превращений, как она в настоящее время вырисовывается для животной клетки.



Эта цепь характеризуется, как известно, тем, что на самом же первом этапе происходит фосфорилирование углевода, и вошедшая в состав его молекулы фосфорная кислота сохраняется на всем пути, чтобы лишь перед самым последним завершающим этапом отщепиться.

Первый же этап дает нам пример одной из обратимых реакций. Первичным продуктом фосфорилирования гексозы естественно считать такой, который содержит один остаток фосфорной кислоты, так называемый гексозо-монофосфат. Препаративными путями сравнительно легко удается получить такие монофосфаты как глюкозы (альдегидной гексозы), так и кетозы—плодового сахара, фруктозы. Эти монофосфаты известны под названием робизоновского и нейберговского. Полученные тем или иным путем они оказываются достаточно стойкими. Но, как показал Ломанн, под действием фермента из дрожжевой клетки или из мышцы происходит необычайно быстрая перегруппировка, и если мы исходили из какого-либо одного эпимера, то в течение нескольких минут устанавливается равновесие между обеими формами.

Нет оснований сомневаться, что именно таков — через эстерификацию в фосфорилированном состоянии — путь эпимеризации, взаимного перехода гексоз, этого процесса чрезвычайно важного биологически, например при синтезе сахаров у растения. Разумеется, излишне добавлять, что на свободные, не фосфорилированные гексозы этот фермент — эпимераза, как повидимому его следовало бы назвать, — совершенно не действует. Поскольку эпимеризация гексоз совершается через образование энольных форм (Лобри де-Брюэн и Неф), мы приходим к заключению, что фосфорилирование гексозы здесь значительно повышает наклонность молекулы к десмотропным изменениям, фактически разрыхляет связи в ней, притом на значительном расстоянии от замещающей группы. Интересно было бы сравнить и скорость чисто химической, не ферментативной эпимеризации фосфорилированных и свободных гексоз, но к сожалению данных по этому вопросу пока у нас нет.

Второй равновесный этап представляет особенный интерес. Это открытый Мейергофом и Ломанном обратимый распад гексозо-дифосфата на 2 молекулы фосфо-триозы, фосфо-диоксиацетона. Под действием чрезвычайно активного фермента, которому Мейергоф дал название з и м о г е к с а з ы, происходит здесь разрыв шестиуглеродной цепи гексозы на две трехуглеродные молекулы. Эта реакция представляет исключительный интерес, поскольку она является по существу центральным пунктом биологического распада углевода. Разрыв, о котором здесь идет речь, издавна постулируемый, впервые получил конкретное химическое выражение в опытах гейдельбергской школы исследователей. Гексозо-дифосфат—вещество, вообще говоря, достаточно стойкое при прибавлении дрожжевого сока или мышечного экстракта с величайшей легкостью и быстротой, на протяжении секунд распадается с образованием фосфо-триозы. Особенно важно и интересно, что распад, вызываемый зимогексазой, отнюдь не происходит нацело, а останавливается достигнув совершенно определенного положения равновесия. Положение этого равновесия сильно зависит от температуры; чем она выше, тем дальше в сторону распада смещено это положение: при 60° распадается около 70% дифосфата, при 20° распадается всего 40% и при температуре около 0° распадается всего 10—12%. Эта температурная зависимость свидетельствует о высоком тепловом эффекте реакции и, поскольку повышение температуры способствует распаду, об отрицательном эффекте распада. Как подчеркивает Мейергоф, мы имеем здесь впервые эндотермическую энзиматическую реакцию, протекающую быстро, в огромном объеме, совершающуюся с поглощением тепла из среды, с понижением температуры, притом эндотермическую реакцию не сопряженного типа, которая была бы связана с одновременно идущей экзотермической реакцией, а идущую совершенно самостоятельно. Термодинамический вывод подтверждается и прямыми калориметрическими изменениями. Тепловой эффект значителен, составляя около 14 000 калорий.

Эта реакция знаменательна во многих отношениях. Прежде всего она показывает возможность фактического использования теплоты связыванием ее очевидно в форме химической энергии в процессах десмолиза. Может быть этой реакцией объясняются отмечавшиеся Хиллом отрицательные температурные колебания в мышце. Ее существование поддерживает и утверждение Хана, в свое время так резко оспаривавшееся Мейергофом, о возможности поглощения тепла и использования тепловой энергии при химических процессах, участвующих в химизме мышц.

Но помимо этого энергетического интереса важны и другие черты этой реакции. Я уже упоминал об ее равновесности, об ее полной обратимости. С такой же легкостью, как распад, под влиянием того же фермента зимогексазы совершается и синтез гексозо-дифосфата, доходящий до такого же в точности положения равновесия.

Помимо энергетического и энзимологического интереса, реакция эта представляется весьмо важной в общебиологическом отношении. Прежде всего мы здесь видим конкретные химические формы десмолиза, т. е. распада углеродной цепи гексозы. Но еще более знаменательным кажется мне, что в свете полной обратимости этой реакции мы здесь впервые встречаем конкретную форму синтеза гексозного скелета. Настойчиво напрашивается мысль о том, что важнейший в экономии живого мира процесс — синтез углевода из первичных продуктов ассимиляции, синтез, который мы привыкли себе представлять, как альдольную конденсацию, но для которого мы до сих пор не имели ничего кроме весьма отдаленных аналогий, сейчас вырисовывается в реальных формах, и что этот синтез осуществляется при участии фосфорилированных продуктов. Изучение более поздней стадии фотосинтеза под углом зрения участия в нем фосфорилированных соединений представляется в настоящее время актуальной проблемой. Имеющиеся пока отрывочные наблюдения далеко не соответствуют важности вопроса.

Минуя следующий этап десмолиза—дисмутацию образовавшихся фосфо-триоз, ведущую к образованию фосфо-глицериновой кислоты, мы снова встречаемся с обратимыми равновесными реакциями при последующих превращениях этого соединения. Соответственно расположению остатков фосфорной кислоты в концах углеродной цепи окисление фосфо-триоз дает в качестве первичного продукта карбоксильный дериват тоже с расположением фосфорного остатка у третьего углерода. Оказывается, однако, что β-Р-глицериновая кислота под действием фермента, содержащегося в клеточном экстракте, быстро, обратимым образом, изомеризуется в α-Р-глицериновую кислоту. И здесь мы имеем типичную обратимую, равновесную реакцию, идущую в обычных условиях примерно до 20%, причем равновесие одинаково быстро и гладко достигается опять-таки с обеих сторон.

Наконец дальнейший этап, это превращение α-Р-глицериновой кислоты в фосфо-пировиноградную (дериват ее энольной формы). Этот

процесс, представляющий собой результат дегидратирования, тоже оказывается обратимым и равновесным, с равновесием, лежащим примерно при 70% нового продукта, фосфо-пировиноградной кислоты.

Таким образом превращение фосфо-глицериновой кислоты в фосфопировиноградную оказывается расчлененным на два этапа — обратимых и равновесных. Здесь имеется участие двух самостоятельных ферментов, которые могут быть простыми приемами адсорбции более или менее полно разделены друг от друга на фермент фосфо-глицеро-мутазу для первого этапа — изомеризации Р-глицериновых кислот, и энолазу для образования энол-Р-пировиноградной кислоты.

При несомненно установленной самостоятельности этих двух ферментов мы в механизме их действия быть может должны видеть общие черты. Во втором случае мы просто имеем дело с отщеплением и присоединением воды. Наиболее вероятно, что и миграция фосфорной кислоты в первом случае совершается таким образом, что сначала происходит эстерификация второй кислотной группы со вторым спиртовым гидроксилом, а затем в результате присоединения воды, но уже в новом месте молекулы происходит образование другого изомера. Точнее сказать, что из бис-эстера образуются оба изомера. Относительной скоростью каждого из двух направлений определяется состав равновесной смеси.

Подытоживая сказанное об этом ряде новых обратимых реакций, я хотел бы прежде всего сопоставить их с обычными классическими обратимыми энзиматическими процессами, с обратимостью действия протеаз, липаз и карбогидраз. Реакции, протекающие под действием этих ферментов, — это все реакции, связанные с процессом ассимиляции, с процессами переваривания пищевых веществ, с одной стороны, а с другой стороны, с построением протоплазмы или с синтезом резервных ее продуктов. Это процессы преимущественно пластического обмена. Обратимые реакции, которые мы здесь встречаем, существенно отличаются от сейчас рассмотренных реакций. Прежде всего там мы имеем одну общую категорию. Это все реакции гидролиза и его обращения. Это все реакции, протекающие, особенно в синтетическом направлении, чрезвычайно медленно. Последнее обстоятельство объясняет и одно общее их свойство: у всех у них, как правило, положение равновесия сдвинуто чрезвычайно далеко в одну сторону — именно в сторону расщепления. Повидимому нужны совершенно особые условия, с трудом осуществляемые в гомогенной среде и достигаемые видимо лишь в поверхностных слоях гетерогенных систем, чтобы получить ощутимый эффект синтеза.

По всем этим пунктам обратимые реакции энергетического обмена резко отличаются от этих обратимых гидролизов. Они отличаются прежде всего, как мы уже знаем, чрезвычайным разнообразием. Если, с одной стороны, мы видим среди них такие сравнительно легкие изменения

строения, как десмотропные превращения при эпимеризации гексозомонофосфатов, то далее мы встречаем реакции гидратации и ангидрирования — я напоминаю о действии энолазы. Мы имеем внутримолекулярные реакции перемещения фосфорной группы, ведущие к изомерии положения. Наконец, мы имеем реакцию, затрагивающую самый скелет органической молекулы — десмолитический разрыв углеродных связей и их обратное возникновение.

Подчеркнув это разнообразие, нельзя не отметить и совершенно иной порядок величины скоростей этих реакций: в них достижение равновесия совершается на протяжении в одних случаях секунд, в других — максимум нескольких десятков минут при концентрациях фермента несравненно более низких, чем они имеются в самой клетке.

Наконец характерно, что положение равновесия соответственно сравнительной близости скоростей как прямой, так и обратной реакции лежит в таких пределах, что при условиях, приближающихся к нормальным, имеются весьма значительные, вполне соизмеримые количества всех компонентов равновесной системы.

Обращает на себя внимание то обстоятельство, что в ряде случаев положение равновесия оказывается в нормальных условиях сдвинутым более или менее далеко в сторону исходного продукта. В этом тоже отличие от равновесий при гидролитических реакциях. Вследствие этого незначительное накопление продуктов на низших ступенях этой лестницы немедленно задерживает дальнейший распад выше лежащих ступеней. Лишь по мере исчезновения каждой ниже лежащей ступени наступает пополняющее эту убыль расщепление или превращение выше лежащего продукта. Несомненно, что в этой автоматической регулировке распада исходного продукта в точном соответствии со скоростью протекания последних, заключительных стадий, следует усматривать весьма совершенное приспособление в области клеточного химизма. Однако, необходимо подчеркнуть здесь же, что помимо указанного возможного механизма, основанного на обратимости отдельных звеньев в клеточном химизме, мы видим и ряд дальнейших приспособлений, служащих вероятно еще более эффективно той же цели автоматической регулировки. К числу этих приспособлений относятся те сопряженные реакции, к рассмотрению которых я сейчас перехожу.

Типом сопряженных реакций, который доминирует в энергетическом обмене, являются окислительно-восстановительные реакции, оксидоредукции. Они могут иметь характер либо дисмутаций, т. е. взаимодействия двух молекул метаболитов, либо характер более прямого окисления при взаимодействии молекулы метаболита с тем или иным переносчиком водорода, будет ли это сам окислительный фермент, или какой-либо непрерывно регенерирующий промежуточный катализатор, или даже система таковых, как мы это имеем в цитрохромах, флавинах, сульфгидрилах, в системе Сцент-Гьорги (сукцинат — фумарат — оксал-ацетат)

и т. д. Характером настоящей сопряженной реакции обладает преимущественно первый тип взаимодействия двух веществ, которые оба возникают в процессе обмена и из которых одно окисляется за счет восстановления другого. Мы привыкли видеть именно в этих оксидоредукциях, протекающих без участия кислорода, в этих аноксидативных сопряженных реакциях, основной источник энергии, освобождающейся в процессах анаэробного обмена. Таковым и остается значение этих сопряженных оксидоредукций. Но наряду с ними выявился новый тип сопряженных реакций, тоже принимающих решающее участие в энергетическом обмене. Это реакции, в которых опять-таки принимают участие фосфорилированные продукты, но при которых фосфорная кислота влияет не только своим присутствием, повышая реакционную способность соединения, но и выступает сама в качестве участника реакции. Это реакции прямого переноса фосфорной кислоты, находящейся в эфирной связи, с одного вещества на другое, реакции так называемой «переэстерификации» (Umesterung). Если при оксидоредукциях мы имеем окисление одного из двух участвующих в сопряженной реакции веществ за счет восстановления другого, то здесь мы имеем фосфорилирование одного вещества за счет дефосфорилирования другого.

Я наметил две категории оксидоредукций: во-первых, характера дисмутаций, с передвижением водорода между двумя продуктами обмена (метаболитами), и во-вторых, с передвижением его от метаболита к веществу катализаторного типа, не рождающемуся непрерывно заново в процессе обмена, а имеющемуся в некотором постоянном количестве и проделывающему перманентное циклическое превращение, как немцы его называют — «колебательное, качающееся, маятниковое» превращение. В реакциях переэстерификации мы имеем, насколько можно сейчас судить, исключительно сопряженные реакции второго типа, с циклическим превращением некоторого вспомогательного катализатора, служащего переносчиком фосфорной кислоты, подобно тому, как в оксидоредукциях мы знаем ряд переносчиков водорода. Но если там мы встречаемся с большим разнообразием этих переносчиков, то здесь эта функция повидимому принадлежит одному единственному веществу. Этим веществом является радикал адениловой кислоты.

Адениловая кислота, выступая в роли акцептора фосфорной кислоты присоединяет две молекулы ее и превращается в аденозин-трифосфорную кислоту (АТР). Эта кислота (АТР) в свою очередь может играть роль донатора фосфорной кислоты, отдавая ее другим соединениям и превращаясь обратно (дефосфорилируясь) в исходное состояние монофосфорилированного нуклеотида — адениловой кислоты. После этого процесс может начаться снова.

К этим веществам я еще вернусь, но раньше я должен остановиться еще на одной категории сопряженных реакций, вернее сопряженных процессов. Я имею в виду более сложные циклические процессы сопря-

женных ресинтезов, состоящие по крайней мере в ряде случаев из целой серии отдельных химических реакций.

Общеизвестно сопряжение между дыханием и брожением, которое сформулировано Мейергофом таким образом, что за счет энергии окислительных процессов осуществляется ресинтез большей или меньшей, обычно весьма значительной, части продуктов аноксидативного распада углевода обратно в исходное состояние гексозы или гликогена. Это то, что мы привыкли обозначать как реакцию Пастера-Мейергофа. Такова мейергофовская трактовка установленного или, вернее, предсказанного Пастером замещения брожения дыханием. Здесь нет возможности вдаваться в оценку других воззрений, выдвинутых в последнее время Липцманом и поддерживаемых Клуйвером, о подлинной природе взаимоотношения дыхания и брожения, и я условно ограничусь одной мейергофовской формулировкой.

Как известно, вслед за круговоротом «молочная кислота $\rightleftarrows$ углевод» был описан сходный круговорот фосфагена в мышце. Фосфаген (фосфокреатин) распадается при мышечной деятельности. Этот распад экзотермичен. Распад может быть обращен, фосфаген может быть ресинтезирован при одновременно протекающих процессах или гликолиза или окисления. Это трактовалось таким образом, что ресинтез фосфагена совершается за счет энергии того или другого из этих двух экзотермических процессов.

Несколько лет спустя после открытия фосфагена и его циклических превращений, аналогичный круговорот, такой же ресинтез, был постулирован мною для упоминавшегося выше соединения — аденозинтрифосфорной кислоты. Это было сделано на основании опытов на красных кровяных шариках, содержащих довольно значительное количество аденозин-трифосфорной кислоты и являющихся во многих отношениях весьма удобными экспериментальными объектами. Опыты показали, что при выключении гликолиза у безъядерных, лишенных дыхательного обмена эритроцитов млекопитающего, наступает распад АТР. Такой же распад наблюдается на эритроцитах птиц, содержащих ядро и обладающих интенсивным дыханием, при выключении этого последнего. Это было истолковано мною таким образом, что непрерывно идущий распад, дефосфорилирование АТР, перекрывается одновременно идущим ресинтезом, происходящим в первом случае за счет гликолиза, а во втором случае — за счет дыхания. И действительно, на дышащих птичьих эритроцитах удалось прямыми опытами показать рефосфорилирование при возобновлении аэробных условий после не слишком длительного анаэробиоза.

Таким образом в полной аналогии с двойным механизмом ресинтеза фосфагена, установленного на мышце, был установлен такой же двойной механизм ресинтеза АТР в эритроцитах. Но если в отношении фосфагена в мышце имеются одновременно оба механизма с относительно

близкой эффективностью, то в отношении АТР получилось впечатление, что мы имеем случаи далеко идущего разделения их в соответствии с двумя резко разграниченными типами обмена: у безъядерных мы имеем почти в чистом виде гликолитический обмен, аэробный, у ядерного эритроцита выступает в практически чистом виде окислительный обмен.

Уже тогда я высказал предположение, что надо ожидать возможности одновременного существования обоих механизмов ресинтеза АТР: и гликолитического и оксидативного. Это предположение в дальнейшем полностью подтвердилось, и позднейшие работы заставили даже пересмотреть первоначальное принципиальное противопоставление упомянутых двух типов эритроцитов.

Известно, что после вызванной тем или иным способом анемии, когда начинается регенерация форменных элементов крови, в крови животных появляются молодые формы красных кровяных шариков, которые обнаруживают некоторую гистологическую структуру, но не содержат ядра. Это — так называемые ретикулоциты или клетки Моравица. Несмотря на то, что они являются безъядерными, подобно нормальным эритроцитам млекопитающего, они обладают чрезвычайно интенсивным дыханием, достигающим тех же величин, как и дыхание типичной аэробной ядерной кровяной клетки птиц. В работе с такого рода ретикулоцитами М. Н. Любимова установила, что в этих клетках, соединяющих в себе черты безъядерного эритроцита млекопитающего и ядерного эритроцита птиц, сохранивших высокий гликолиз (аэробный) и имеющих интенсивное дыхание, с особенной ясностью обнаруживается одновременное существование обоих механизмов ресинтеза — и гликолитического и дыхательного. Выключение одного или другого из этих процессов влечет за собой распад АТР, но не полный, а лишь в некоторой определенной части; при выключении обоих процессов эффекты примерно суммируются, и наступает полный распад АТР.

Эти опыты, интересные и убедительные сами по себе, все же имели объектом весьма своеобразную клетку, своего рода «биологический артефакт». Очень ценным поэтому явилось обнаружение А. А. Баевым при более детальном изучении обмена ядерного эритроцита наличие и у этих клеток, рассматривавшихся мной раньше, как исключительно аэробные, наряду с доминирующим оксидативным механизмом ресинтеза АТР наличие и механизма гликолитического. Это оказалось возможным в результате применения более совершенных методов исследования, в частности в результате использования энзиматических методов анализа.

На основании этих исследований установлено, что у гликолизирующих, не дышащих, безъядерных эритроцитов резко преобладает гликолитический механизм и лишь в виде следов — оксидативный (нужно сказать, что хотя и слабое, но уловимое дыхание имеется и у этих

клеток). У ретикулоцитов выступают с практически одинаковой эффективностью оба механизма. Наконец у ядерного, энергично дышащего эритроцита сильно доминирует оксидативный механизм.

Этими опытами на эритроцитах в первый раз было установлено активное участие АТР в процессе клеточного обмена, наличие определенных превращений ее, непосредственно связанных, сопряженных с течением гликолиза, с одной стороны, и дыхания, с другой. Я охарактеризовал тогда АТР как ко-фермент дыхания. Вскоре после этого Ломанн открыл чрезвычайно важное обстоятельство, а именно, что АТР является ко-ферментом гликолиза. Этим был установлен факт чрезвычайной важности, но механизм этой функции АТР в качестве ко-фермента оставался совершенно незатронутым: было неизвестно, принимает ли АТР какое-либо непосредственное, химическое, стехиометрическое участие в процессе, подвергается ли она каким-либо изменениям, стоит ли эта ко-ферментная функция в какой-либо связи с описанными мной превращениями или же АТР влияет, не подвергаясь изменениям, одним своим присутствием изменяя активность фермента или оказывая так называемое «иональное воздействие», в свое время настойчиво постулировавшееся Эмбденом.

К этому вопросу я еще вернусь, но сначала я хотел бы подчеркнуть общее состояние вопроса о ресинтезах, как он обстоял в то время примерно лет 5 тому назад. Когда я говорил о круговороте Мейергофа о ресинтезе углевода, сопряженном с дыханием, я отмечал, что сопряженность эта характеризовалась как чисто энергетическая. Попытки сформулировать ее химически, дать ей выражение в формулах, конкретизирующих эту сопряженность, делались. Можно назвать попытки Вюрмзера, Клуйвера, Сцент-Гьорги. Но все это было чисто умозрительно, не подтверждено экспериментально, опиралось на шаткие аналогии. Так же обстояло дело и с ресинтезом фосфагена: сопряженность формулировалась здесь тоже чисто энергетически, но когда оказалось что в определенных условиях количество энергии, которое должно было затратиться для наблюдавшегося в опыте объема ресинтеза фосфагена, значительно больше, чем этой энергии освободилось за счет имевшего за это время место гликолиза, и обнаружилось, что в этом случае наряду с синтезом фосфагена (эндотермическим) наблюдается распад аденозин-трифосфорной кислоты (экзотермический), то было сделано заключение, что ресинтез фосфагена возможен не только за счет энергии гликолиза, не только за счет энергии дыхания, но и за счет энергии распада аденозин - трифосфорной кислоты. Точно так же наконец и для описанных мной ресинтезов аденозин-трифосфорной кислоты, гликолитического и оксидативного, не представлялось возможным дать химическую конкретизацию.

Но потребность в замене энергетической трактовки сопряженных реакций процессов ресинтеза, обнаруженных в числе реакций клеточ-

ного обмена, настоятельно ощущалась. Было ясно, что энергетическая формулировка взаимоотношений сопряженных реакций при всем ее большом и неоспоримом значении является недостаточной, неспособной дать какое-либо конкретное представление о подлинном механизме ресинтеза. Не подлежит сомнению, что в основе этих сопряженных реакций лежит сопряженность химическая, а энергетические моменты лишь наслаиваются на этот химический механизм.

Работы, появившиеся на протяжении последних двух лет в очень значительной степени заполнили этот пробел. Первой была расшифрована сопряженная реакция между фосфагеном (фосфо-креатином) и аденозин-трифосфорной кислотой. Энергетические взаимоотношения превращений этих двух веществ выражаются следующим образом: распад фосфо-креатина сопровождается освобождением 12 500 кал на моль фосфора, столько же энергии освобождается при отщеплении моля фосфора из аденозин-трифосфорной кислоты. Следовательно энергии, освобождающейся при распаде одной молекулы АТР с отщеплением двух молей фосфорной кислоты, как-раз достаточно для того, чтобы покрыть потребность энергии, необходимой для осуществления эндотермического ресинтеза этих двух молей фосфорной кислоты в два моля фосфо-креатина.

Но дело здесь не только в энергии. Оказывается, как показал Ломанн, что даже экзотермический распад фосфо-креатина при действии мышечного экстракта самопроизвольно не происходит. Для осуществления этой ферментативной реакции требуется присутствие ко-фермента. Этим ко-ферментом оказалась адениловая кислота. Действие этого ко-фермента сводится к типичной стехиометрической сопряженной реакции, заключающейся в том, что адениловая кислота отнимает остаток фосфорной кислоты от фосфо-креатина, дефосфорилирует его, сама фосфорилируясь в аденозин - трифосфорную кислоту. В соответствии с тем, что я говорил выше, валовой энергетический эффект, баланс, этой реакции оказывается нулевым.

Результаты опытов эмбденовской школы, затем Парнаса и наконец опытов Нидхэм и Хэйнинген'а указывали, что эта реакция между фосфорными эстерами гуанидиновой и аденозиновой групп является обратимой. В исчерпывающей мере это было установлено прямыми опытами Ломанна тоже в лаборатории Мейергофа.

Роль адениловых дериватов в качестве ко-фермента при превращении фосфагена была обнаружена позднее, чем аналогичная ко-ферментная их роль при гликолизе, на которую я указывал. Оказалось, что по существу и в последнем случае мы имеем, по крайней мере в отношении некоторых этапов, на которых это ко-ферментное действие проявляется, совершенно тождественный механизм участия этого ко-фермента. Это участие заключается в том, что он оказывается партнером в сопряженной реакции и именно в той же реакции переэстерификации.

Часть многочисленных отдельных звеньев, составляющих всю цепь десмолиза, протекает под действием тщательно диализированного, т. е. лишенного всяких ко-ферментов клеточного экстракта. Это — все те же равновесные реакции, о которых я говорил в начале. Другая же часть промежуточных этапов требует наличия кроме ферментного аппарата также и более простых, относительно термостабильных, легко диализирующих участников, объединяемых под термином ко-ферментов. К числу таких, требующих участия ко-фермента этапов относятся, с одной стороны, реакции оксидоредукции — дисмутация фосфо-триоз, и оксидоредукция, ведущая к образованию конечного продукта (восстановлением пировиноградной — в молочную кислоту при гликолизе, или - альдегида в спирт при спиртовом брожении). Но что для нас особенно важно, так это то, что наличия ко-фермента требует, во-первых, реакция образования пировиноградной кислоты путем дефосфорилирования ее предшественника, фосфо-пировиноградной, и, во-вторых, процесс первичного фосфорилирования гексозы.

Вопрос об участии ко-фермента при оксидоредукциях еще темен. Поэтому я его касаться не буду. Что же касается дефосфорилирования фосфо-пировиноградной кислоты, то здесь мы имеем ту сопряженную реакцию, о которой я упоминал — реакцию переэстерификации. Ко-ферментом служит адениловая кислота. Она играет роль акцептора фосфорной группы, дефосфорилирует фосфо-пировиноградную, сама фосфорилируясь в аденозин-трифосфорную кислоту.

Я напомню, что в первоначальной формулировке Эмбдена образование пировиноградной кислоты рассматривалось как своеобразная реакция. Эмбден считал, что пировиноградная кислота образуется из фосфоглицериновой не в результате обычного гидролиза, а путем прямого отщепления фосфорной кислоты, как бы путем внутримолекулярного гидролиза. Это представление, как мы видели, не оправдалось. И тем не менее, образование пировиноградной кислоты из фосфо-пировиноградной тоже не является гидролизом, а совсем другим типом реакции результатом переэстерификации. Правда, как я пояснял дальше, может быть до известной степени мы вправе видеть и здесь своего рода, но иной, чем это полагал Эмбден, вид внутримолекулярного гидролиза.

Такова вторая сопряженная реакция — фосфорилирование адениловой кислоты в аденозин-трифосфорную за счет дефосфорилирования фосфо-пировиноградной. В отличие от реакции переэстерификации с креатином, эта реакция, насколько можно судить по имеющимся сейчас данным, является необратимой, и именно этот необратимый характер, вероятно, определяет собой однозначно, в одном направлении идущее течение всего процесса десмолиза.

Эта реакция является реакцией первостепенной важности. Первая рассмотренная мной сопряженная реакция, протекающая с участием фосфагена, является специализированным процессом, протекающим только

в мышце, играя и там повидимому вспомогательную роль. Сопряженная же реакция между фосфо-пировиноградной кислотой и адениловым радикалом является одним из узловых пунктов в течение распада углевода. Это тот пункт, где молекула углевода, точнее продукт ее расщепления, теряет сопровождавшую его на всем пути предшествующих превращений фосфорную кислоту. Фосфорная кислота выведена из цепи реакций. Это удаление, отщепление фосфорной кислоты требует участия ко-фермента, аденин-нуклеотида, и мы видим, в чем механизм этого участия заключается: фосфорная кислота не выводится из эфирной связи, не отщепляется в виде свободного фосфата, а остается по-прежнему связанной в виде эстера, но теперь уже не с молекулой метаболита, не с собственным субстратом десмолиза, а с молекулой ко-фермента.

Если бы дело ограничивалось только этим, то по исчерпании запаса свободной адениловой кислоты, служащей акцептором фосфора, процесс десмолиза остановился бы. Этого не происходит потому, что присоединяется дальнейшая сопряженная реакция переэстерификации, в результате которой фосфорная кислота снова возвращается в круг собственно десмолитических превращений, а адениловая кислота регенерируется и вновь может выполнять свою функцию ко-фермента. Это — давно постулированная, а в настоящее время экспериментально установленная Парнасом реакция, переэстерификация между аденозин-трифосфорной кислотой и новой молекулой гексозы, вовлекаемой в процесс десмолиза: аденозин-трифосфорная кислота дефосфорилируется в адениловую кислоту, из гексозы образуется гексозо-дифосфат. Этим замкнут круг превращений фосфорной кислоты.

Роль аденозин-трифосфорной кислоты в процессах десмолиза, ее фактическое химическое участие в них было в основном установлено опытами на животных объектах, мышце и эритроцитах. Но в докладе на Международном физиологическом конгрессе Браунштейн сообщил о своих опытах с Левитовым, указывающих, что аналогичную роль АТР играет и в обмене дрожжевой клетки. Это утверждение исчерпывающим образом подтверждено появившимися, спустя короткое время, работами Парнаса. Сейчас может считаться с полной несомненностью установленным, что описанные закономерности в совершенно одинаковой степени приложимы к двум важнейшим типам десмолиза — к распаду сахара в животной клетке (гликолиза), с одной стороны, и к спиртовому брожению, с другой. Мы несомненно имеем здесь далеко идущее единство основных химических процессов, являющихся движущей силой для всех проявлений жизнедеятельности клетки.

Если такова установленная общность аноксидативных процессов в отношении участия АТР, то не приходится сомневаться, что то же самое справедливо и для ее участия, для связи ее превращений с окислительными процессами в клетке, связи, нами обнаруженной и изуча-

емой далее. По существу до недавнего времени оксидативный ресинтез АТР был показан лишь теми опытами на эритроцитах, о которых я выше говорил. С самого начала я держался той точки зрения, что тут мы имеем дело с явлением широкого общего значения. И, действительно, в истекшем году, в работах той же лаборатории Парнаса уже даны подтверждения этому воззрению. Оказалось, что в мышце наблюдается такое же самое действие дыхания на аденозин-трифосфорную кислоту (консервирующее действие или ресинтетическое), какое было впервые обнаружено на эритроцитах.

Изложенные мною сопряженные реакции аденин-нуклеотида в их связи с общим ходом десмолиза могут быть представлены на следующей схеме.

[Адениловая кислота + $2H_3PO_4$] + $2H_2O$ ← - - - - - Аденозин-трифосфорная кислота (АТР) ——→ Гликолен ↓ Гексоза ↓ Гексозо-фосфат

↑↓

[Инозиновая кислота + NH_3] + H_2O ← - - - - - - - - - Адениловая кислота ←—— Р=Пировиноградная кислота ↓ Пировиноградная кислота

Согласно этой схеме при нормальном течении распада углевода не имеет места отщепление свободного фосфата. В системе адениловая-аденозин-трифосфорная кислота равновесие сдвинуто сильно в сторону последней, практически говоря даже нацело, и в стационарном состоянии весь аденин-нуклеотид находится в своей трижды фосфорилированной форме. Но как только нарушается нормальное течение десмолиза, так цикл, обеспечивающий постоянство аденозин-трифосфорной кислоты, разрывается, и она подвергается распаду.

В свете эти новых данных приходится пересмотреть мое первоначальное представление о характере превращений АТР в связи с гликолизом и дыханием. Я говорил о непрерывно идущем ресинтезе АТР, предполагая, что она распадается на адениловую кислоту с отщеплением свободного ортофосфата и из этих продуктов снова регенерируется. Теперь приходится притти к выводу, что дело не в полном ресинтезе, а лишь в рефосфорилировании путем прямого переноса фосфорной группы из того или иного донатора.

Указанными сопряженными реакциями переэстерификации поддерживается неизменным содержание АТР в процессе десмолиза, т. е. осуществляется то, что я называл ресинтезом; этим термином с приведенными только что ограничениями я буду пользоваться, как более удобным, и дальше. Этими реакциями можно считать полностью расшифрованным путь одного из двух механизмов ресинтеза — именно ресинтеза гликолитического. Не подлежит сомнению, что путь оксидативного

ресинтеза принципиально ему аналогичен. Но детали этого механизма остаются нам еще совершенно неясными, ибо до сих пор мы практически еще ничего конкретного не знаем относительно этапов окислительного распада углеводов. Несомненно одно, что и при окислительном распаде образуется какой-то донатор фосфора, дефосфорилируемый адениловой кислотой и обеспечивающий непрерывное превращение ее в аденозин-трифосфорную кислоту. Ближайшая и настоятельная задача, которая стоит у нас в порядке дня, — постараться подойти к расшифрованию конкретного механизма оксидативного ресинтеза. Теперь, когда известны основные закономерности механизма гликолитического, эта задача несколько облегчается, но остается одна чрезвычайно большая трудность: вся расшифровка этой сложной цепи гликолитических реакций оказалась возможной после того, как весь процесс удалось вести на бесструктурном экстракте, где как угодно можно вычленять те или иные звенья и вводить любые компоненты. С клеточным дыханием мы этого еще далеко не можем сделать. Трудности, которые в связи с этим возникают, весьма серьезные, но, разумеется, нужно добиваться того, чтобы их преодолеть.

Расшифровка механизма действия аденозин-трифосфорной кислоты, рассматривавшейся как ко-фермент гликолиза, побуждает к пересмотру самого термина «ко-фермент» или по крайней мере вкладываемого в этот термин содержания. В разных случаях это содержание будет несомненно весьма существенно различаться. Этот вопрос был поднят В. А. Белицером в его статье, посвященной ко-ферментам, и мне кажется небесполезным к нему сейчас вернуться. Белицер предлагает говорить в известных случаях не о ко-ферментах, а о ко-субстратах. Та же мысль вскользь встречается и у Парнаса. В рассмотренных выше сопряженных реакциях адениловая или аденозин-трифосфорная кислота являются одним из двух совершенно равноценных участников сопряженной ферментативной реакции. Оба эти участника являются субстратами действия фермента. Разница здесь только лишь в том, что в дальнейшем один подвергается необратимым изменениям, а другой регенерируется. Но это вопрос их дальнейшей судьбы, а не конкретного содержания самой реакции. Может быть для их обозначения был бы приемлем термин «с и н с т р а т ы». Тогда термин «ко-субстрат» сохранился бы для случаев, подобных так изящно расшифрованному Гиршефичусом и Хейфец действию глютатиона при ферментативном расщеплении метил-глиоксала. Здесь мы имеем не участие в сопряженной реакции с изменением ко-фермента, а образование настоящего соединения с субстратом, которое только и подвергается воздействию фермента. По окончании реакции вспомогательное вещество, глютатион, появляется в неизмененном виде, в отличие от претерпевшего определенное химическое превращение (фосфорилирование или дефосфорилирование) нуклеотида в тех реакциях, о которых шла речь выше.

В заключение несколько слов относительно количественных соотношений при циклических, обусловленных сопряженными реакциями, превращениях адениловой и аденозин-трифосфорной кислоты так, как они вырисовываются из опытов на эритроцитах.

Прежде всего небезинтересно сопоставить молярные величины превращений фосфорной кислоты, с одной стороны, и дыхания,— с другой. При выключении дыхания в эритроцитах голубя отщепляется от 150 до 250 γ фосфора на мл клеток за час, т. е. около 5—8 микромолей на 1 мл или миллимолей на литр. Ясно, что такое же количество фосфора должно итти на рефосфорилирование ATP в аэробных условиях для того, чтобы количество ее поддерживалось постоянным. За это же время (за час) на 1 мл эритроцитов, потребляется 80—150 $мм^3$ кислорода, т. е. 4—7 микромолей. Как видно, это величины, лежащие чрезвычайно близко от простого эквимолекулярного соотношения. Это отношение приблизится к единице, если учесть, что некоторая часть ресинтеза осуществляется и здесь за счет гликолитического механизма.

Того же порядка величины были получены Браунштейном и Северин при пересчете избыточного дыхания и соответственной задержки распада ATP при окислении пировиноградной кислоты. Наконец, те же величины получались и мной для опытов прямого ресинтеза. Таким образом три совсем различных принципа расчета дают весьма близкие величины, колеблющиеся в обе стороны, от простого эквимолярного соотношения. Это позволяет сделать заключение, что каждый моль кислорода, потребленный при дыхании, вызывает образование одного моля донатора фосфора, служащего для рефосфорилирования монофосфатного нуклеотида в более высокую ступень фосфорилирования, т. е. в ди- или трифосфо-нуклеотид. Эта соизмеримость молярных величин, их близкое к стехиометрической эквивалентности соотношение с полной несомненностью указывает, что и при оксидативном ресинтезе мы имеем дело с настоящей сопряженной реакцией, и задача теперь в том чтобы, зная одного из участников ее, выяснить второго и тем самым вскрыть природу хотя бы одного из промежуточных этапов оксидативного распада углевода.

Следующий вопрос количественного порядка относится к абсолютной молярной скорости превращений аденозин-трифосфорной кислоты, т. е. к тому как часто за единицу времени совершается переход нуклеотида из состояния адениловой кислоты в аденозин-трифосфорную, и обратно. Это то, что Варбург предложил обозначить как «Wechselzahl», — показатель обращаемости катализатора. Он применил это вычисление к своим окислительным катализаторам и его «Wechselzahl» выражает число переходов из окисленного в восстановленное состояние, и обратно. Его рассуждение, как известно следующее: «если в данном объеме исследуемого материала содержится *a* молей ката-

лизатора и они за единицу времени переносят b молей кислорода (или водорода) (а в нашем случае это будет фосфора), то отношение $\frac{b}{a}$ есть показатель обращаемости». Он показывает, сколько раз за минуту катализатор меняет свое состояние.

На основе этого принципа я произвел пересчеты некоторых имеющихся литературных данных и результатов своих опытов. Результаты этих пересчетов сопоставлены в следующей таблице.

Показатель обращаемости различных катализаторов

Автор; катализатор	В 1 г ткани содержится катализатора: мг	В 1 г ткани содержится катализатора: a микромолей	Реакция	За 1 мин.: Абсол. колич.	За 1 мин.: b микромолей	Показатель обращаем. «Wechselzahl» $\frac{b}{a}$
Warburg						
Желтый фермент (бактерии)	0.015	0.06	Перенос кислорода	40 мм³	1.8	$\frac{1.8}{0.16} = 30$
Szent Györgyi						
Фумарат (мышца) .	0.04	0.35	То же	0.1 мг	3.1	$\frac{3.1}{0.35} = 8.5$
Lohmann						
Аденозин-трифосфорная кислота (мышеч. экстракт)	0.09	3.0	Образование молочной кислоты	0.033 мг	0.3	$\frac{0.3}{3.0} = 0.1$
Энгельгардт						
Аденозин-трифосфорная кислота (эритроциты) . .	0.300	10	Перенос фосфора при дыхании .	0.005 мг	0.16	$\frac{0.16}{10} = 0.016$

Мы видим, что аденозин-трифосфорная кислота реагирует несравненно медленнее других катализаторов.

Причина такой медленности реагирования АТР несомненно лежит в характере самой сопряженной реакции. В соответствии с установленным теперь строением АТР, я полагаю, что единственный механизм, который мы можем приписать этой сопряженной реакции, состоящей в переэстерификации фосфорной кислоты с одного радикала на другой, заключается в том, что сначала образуется с выделением молекулы воды соединение обоих участников в один промежуточный продукт—двойной эфир дифосфорной или, если угодно, пирофосфорной кислоты с адениловой кислотой,— с одной стороны, и с радикалом донатора (например фосфо-пировиноградной кислотой),— с другой; иначе это можно выразить так, что сначала с выделением молекулы воды происходит взаимная эстерификация остатков фосфорной кислоты обоих участников реакции, а затем путем присоединения молекулы воды, гидролиза, но уже в новом

месте происходит распад этого промежуточного соединения таким образом, что оба остатка фосфорной кислоты остаются в связи с одним из компонентов, именно адениловым радикалом. Получается аденозиндифосфорная кислота, а повторение того же процесса дает аденозинтрифосфорную кислоту.

Сравнительная устойчивость, большая «продолжительность жизни» промежуточного продукта должна явиться причиной сравнительной медленности всей реакции в целом. Еще и другое обстоятельство говорит в пользу существования такой связанной формы АТР. Обе формы аденин-нуклеотида — и высоко фосфорилированная аденозин-трифосфорная кислота и моно-фосфорилированная адениловая кислота — сами по себе в клеточных условиях должны быть неустойчивы. Аденозин-трифосфорная кислота чрезвычайно легко дефосфорилируется, а адениловая так же или еще легче дезаминируется. Если тем не менее в клетке мы всегда имеем высокое и притом постоянное содержание АТР, то естественнее всего объяснить это тем, что в сущности свободной АТР мы в клетке не имеем, а вся она находится в связанном виде либо с донатором либо с акцептором, и если мы ее обнаруживаем как свободную, так это потому, что эти соединения вероятно весьма лабильны и в процессе самого анализа распадаются. Насколько это предположение соответствует действительности, должны будут показать результаты экспериментов. Я полагаю, что выяснение этого вопроса представляет собой одну из существенных задач на пути к окончательной расшифровке механизма сопряженных реакций переэстерификации, играющих, как мы видели, столь выдающуюся роль в энергетическом обмене клетки.

Институт биохимии.
Академия Наук СССР.

V. A. ENGELHARDT. REVERSIBLE AND CONJUGATE REACTIONS IN THE ENERGY EXCHANGE OF THE CELL

SUMMARY

Study of the energy exchange of the cell, in particular of its anaerobic phase, has led, of recent years, to the disocovery of new enzymatic reactions and new products that participate in these reactions.

These new reactions may be grouped in two categories.

1. Reversible reactions with a reciprocally attainable equilibrium.
2. Conjugate reactions.

In all the processes of the anaerobic phase without exception, phosphorylated products take part: on the one hand, derivatives of carbohydrate as the substratum of desmolysis, and on the other, auxiliary catalyzers. The participation of phosphoric acid in the processes of oxidizing exchange has also been proved. This makes it possible to attri-

bute to phosphoric acid the role of the integrating factor of the entire energy exchange of the cell as a whole.

The equilibrium reactions of energy exchange markedly differ from the earlier known reversible enzymatic processes (hydrolyses) in the field of plastic exchange by their velocities and diversity. These reactions comprise those of epimerization, the breaking of the carbon chain (aldol decondensation), isomerism of position, hydration and dehydration. Despite this diversity general traits may be detected in them: they all run their course without the participation of co-ferments and may be regarded as the result of the rearrangement, addition, and splitting off of elements of water within the limits of one carbon chain, as distinguished from the intermolecular rearrangements and additions during oxido-reductions and hydrolyses.

The conjugate reactions are the basic source of energy in cellular exchange. Along with the earlier known oxido-reductions (intermolecular rearrangements of the elements of water) a new type of conjugate reactions has been discovered, that of intermolecular rearrangements of phosphoric acid.

The principle of conjugate resynthesis, formulated for the interrelation between respiration and fermentation in the «Meyerhof cycle», covers also a number of other processes: the transformations of phosphagen, and of adenozin-triphosphoric acid. These transformations have been experimentally established to be conjugate with the processes both of anaerobic exchange (glycolysis, fermentation) and of oxidative exchange (respiration).

The transformations of phosphogen have a more specialized importance, as they participate only in the metabolism of muscular (and possibly the nerve) tissues. The transformations of adenozin-triphosphoric acid have a considerably wider significance. Their connection with the processes of glycolysis and respiration was first discovered in the red corpuscles of the blood, and afterwards in muscle and yeast cells. In the blood cells with various kinds of metabolism (nuclear and anuclear, aerobic and anaerobic) may be seen two different mechanisms of resynthesis of adenozin-triphosphate acid: in the one case glycolytic one, in the other oxidative.

This opposition of the two types of metabolism in erythrocytes has no absolute importance. In the anuclear, but energetically respiring young forms of erythrocytes of the mammal (reticulocytes) there have been revealed both mechanisms of resynthesis at the same time.

A detailed analysis reveals in the cellular erythrocyte, along with the predominating oxidative mechanism, the presence of a glycolytic one also. The latter appears in identical measure under both aerobic and anaerobic conditions. The same duality is present in the muslces — apparently in reverse proportion.

It is becoming possible to replace the former treatment of the conjugate cyclical processes of resynthesis from the viewpoint of energy by concrete chemical interpretation. This may be considered as almost completely accomplished in the case of anoxidative rephosphorylation of adenozin-triphosphoric acid (and together with it phosphagen also): the cyclical transformations consist here in conjugate reactions of esterification.

At the same time, the role of adenozin-triphosphoric acid as a co-ferment receives a chemical interpretation: it would be more correct to speak of two co-substrata of equal value in the conjugate enzymatic reaction.

The former conception of the «resynthesis» of adenozin-triphosphoric acid out of the products of its decomposition — orthophosphate and adenylic acid—should be changed: rephosporylation takes place at the expense of the phosphorus of the donor; the manner of esterification of inorganic phosphate demands further study.

There can be no doubt that the mechanism of oxidative rephosphorylation is analogous in principle. The available quantitative data show that each mole of the consumed oxygen (that is, mole of hydrogen taken from the substratum) leads to the formation of one mole of the phosphorus donor, rephosphorylating the adenylic acid. This leads to the further conclusion that the real substratum of biological oxidation (in so far as the carbohydrates are concerned) are the phosphorylated derivatives — and perhaps they alone.

A comparison of the quantity of adenozin-triphosphoric acid in the cell (erythrocyte) with the rate of its decomposition of respiration (and, consequently, with the rate of its rephosphorylation under aerobic conditions) gives an idea of the «index of reversibility» (Wechselzahl). Calculations give values several thousand times lower than for the yellow warburg ferment.

ИЗВЕСТИЯ АКАДЕМИИ НАУК СССР. 1936
BULLETIN DE L'ACADÉMIE DES SCIENCES DE L'URSS

Classe des sciences mathématiques et naturelles

Отделение математических и естественных наук

А. Л. КУРСАНОВ

К ВОПРОСУ ОБ ОБРАТИМОМ ДЕЙСТВИИ ФЕРМЕНТОВ В ЖИВЫХ КЛЕТКАХ[1]

(Представлено академиком **А. Н. Бахом**)

Ферменты обладают обратимым действием, основанным на законе действия масс. Гидролизующее и синтезирующее действия являются свойствами одного и того же фермента. Для проявления синтетического действия фермента необходимым условием является адсорбция фермента и субстрата на поверхностях гетерогенной клеточной структуры. Наоборот, при растворении фермента и субстрата в воде действие первого приобретает гидролизующий характер. Были проведены опыты с живыми неповрежденными листьями, инфильтрируемыми растворами сахаров и инвертазы по методу вакуум-инфильтрации. В соответствии с теоретическими ожиданиями оказалось, что для каждого растительного вида существует характерное соотношение биоз и моноз. Введение инверта или сахарозы вызывает появление гидролитических или синтетических процессов, приводящих к установлению характерного равновесия. Введение инвертазы не изменяет этого положения равновесия, но оно изменяется при всяком воздействии, изменяющем структуру клетки (завядание, протеолиз).

Огромное большинство биохимических превращений, происходящих в клетках живого растения, осуществляется при каталитическом содействии ферментов. Неудивительно поэтому, что к изучению ферментов как со стороны их строения и характера действия, так равно и со стороны участия ферментов в превращениях веществ живого организма привлечено широкое внимание исследователей. Несомненно, что успехи, достигнутые по ряду вопросов этой важной проблемы, настолько велики, что уже сейчас позволяют высказывать целый ряд интересных теорий, обобщающих богатый фактический материал. Однако было бы конечно неверно полагать современное учение о ферментах достаточно ясным и согласованным; ближайшее знакомство с проблемой позволяет установить целый ряд разногласий и даже принципиальных расхождений, существующих по отдельным вопросам. В частности весьма не согласованным остается взгляд на столь кардинальный вопрос, как обратимость ферментного действия.

Еще в 1898 г. Вант Гофф (Van't Hoff) теоретически обосновал

---

[1] Доложено на заседании Биологической группы 28 января 1936 г.

возможность обратимого действия ферментов. Согласно данному им представлению ферменты должны в равной степени ускорять как распад, так и синтез веществ, на которые они действуют, причем направленность процесса подчиняется закону действующих масс. Ближайшие за тем годы, а равно более поздний период принесли экспериментальные подтверждения этой точке зрения.

Не входя здесь в сколько-нибудь подробное рассмотрение отдельных работ, упомянем лишь в качестве примеров о ферментативном синтезе in vitro изомальтозы, осуществленном Хиллом (C. Hill) (6) и затем Прингсгеймом и Лейбовицем (H. Pringscheim и J. Leibowitz) (23) о ферментативном синтезе жира из глицерина и жировых кислот, совершенном Вельтером (A. Welter) (27), о целом ряде синтезов посредством β-глюкозидазы -глюкозидов, которые описал Е. Буркло (E. Bourquelot) (3), о синтезе раффинозы посредством того же эмульсина из сахарозы и галактозы, осуществленном А. Благовещенским (2) и т. д. Все это как будто окончательно убеждает в существовании обратимости действия у ферментов. Однако наряду со всем этим обращает на себя внимание крайняя трудность и замедлительность обратного (т. е. синтезирующего) действия ферментов при осуществлении такового в искусственных условиях, в то время как гидролитическая способность ферментных препаратов обычно проявляется с большой скоростью и при довольно различных условиях. Иными словами, при работе с препаратами ферментов равновесие между распадом и синтезом настолько сдвинуто обычно в сторону распада, что практически мы наблюдаем лишь их одностороннее гидролизующее — действие, каковое и принимаем за так называемое «количественное» выражение активности фермента.

Особенно резко выступает такая односторонность действия ферментных препаратов при сопоставлении их работы с обратимыми биохимическими процессами в живых клетках. Неудивительно поэтому, что именно со стороны биологов, часто имеющих случай проводить такое сравнение, возникло и укрепилось представление, что синтетические процессы в клетках осуществляются особыми ферментами, неразрывно связанными с протоплазмой и ее структурой, в то время, как гидролизующие ферменты более устойчивы и потому различными способами могут быть выделены из разрушенных клеток в виде препаратов. Не имея возможности останавливаться здесь на отдельных работах, трактующих об этом вопросе, укажу лишь, что этот взгляд разделяется например: Лундегордом (H. Lundegårdh) (13), В. Ильиным (9), Молишем (H. Molisch) (18), Шредером (H. Schroeder) (26) и рядом других биологов. Последний автор свое отрицание обратимого действия ферментов аргументирует между прочим тем, что при завядании листьев наступает, как известно, гидролиз крахмала, в то время как согласно закону действия масс, на котором Вант-Гофф основал представление об обратимости ферментного действия, при увеличении концентрации клеточного

сока должны были бы напротив того, усиливаться синтетические процессы. Тем не менее представление о двоякой природе ферментов отнюдь не может считаться обоснованным, поскольку специальных синтетических ферментов — антиподов гидролизующих — никто не доказал. Эта точка зрения возникла лишь как попытка устранить те противоречия, которые создавались в результате сравнения работы ферментов в живой клетке и в искусственных условиях.

Весьма остроумны представления К. Мотеса (K. Mothes) (19), высказанные им в связи с вопросом белкового обмена в живых растительных клетках. Как известно, усиление протеолиза он объясняет понижением окислительного потенциала в клетках, приводящего к образованию специфического активатора протеолитического фермента — цистеина. Напротив того, повышение окислительного потенциала влечет за собой окисление сульфгидрильных групп и вместе с тем замедляет протеолитический распад. Повышая и понижая окислительный потенциал в клетках путем изменения парциального давления O_2, К. Мотес наблюдал довольно тесную зависимость между появлением в теле растения сульфгидрильных групп и протеолизом. К сожалению в своих работах К. Мотес избегает прямо высказаться по вопросу о том, направляются ли синтетические процессы при образовании белков тем же ферментом, что и гидролитические, или же они осуществляются особыми энзимами.

Логическое продолжение теории К. Мотеса, если конечно отказаться от раздельности синтетических и гидролизующих ферментов, приводит к представлению, что обратимость ферментного действия связана с высоким окислительным потенциалом в клетках, значение которого может состоять в усилении окислительных процессов, дающих необходимую энергию для ферментных синтезов. Такое предположение приобретает тем большую вероятность, если учесть, что большинство синтетических реакций действительно сопровождается поглощением энергии. Хорошим экспериментальным подтверждением этого взгляда может служить довольно старая работа Абелу и Рибо (1), в которой посредством растертой свиной почки был осуществлен синтез гиппуровой кислоты из бензилового спирта путем его окисления в бензойную кислоту (выход энергии) и синтеза за счет этой энергии бензойной кислоты с гликоколлем (гиппуровая кислота). Однако такая зависимость по крайней мере в настоящее время отнюдь не имеет достаточных оснований для обобщения ее на все случаи ферментативных синтезов, так как большинство известных нам ферментативных синтезов, проведенных in vitro, осуществлялось без специальных экзотермических реакций, проходящих в реакционной среде.

То же в настоящее время можно сказать и о регулировании белкового обмена в растительных клетках, так остроумно связанного К. Мотесом с окислительным потенциалом. В работе К. Пеха (K. Paech) (22) проверялись данные К. Мотеса и было обнаружено, что распад белков

в темноте и в атмосфере N_2, т. е. при таких условиях, когда окислительные процессы сильно понижены, происходит лишь в тех случаях, когда содержание сахаров и небелковых форм азота сильно понижено. В противных же случаях удается даже при полном отсутствии света и O_2 наблюдать синтез белков. К. Пех отвергает поэтому представление о значении окислительно-восстановительных процессов и возвращается к представлению подвижного равновесия, основанного на законе действия масс. В частности для белкового обмена он дает уравнение, в котором с одной стороны находятся белки, а с другой — сахара́ и небелковые азотистые вещества.

Несомненно, что всем этим отнюдь не разрешается вопрос об энергии, которая все же необходима для большинства ферментативных синтезов, но очевидно также, что вопрос об источниках энергии, доступных для ферментативных синтезов, должен подвергнуться дальнейшему изучению. Весьма вероятно при этом, что запасы используемой для ферментативных синтезов энергии окажутся распространенными гораздо шире, нежели параллельно идущие окислительные реакции. На эту возможность указывают например опыты Мейергофа и Ломанна (16) 1934 г., которым посредством мышечного экстракта удавалось создавать обратимое равновесие между гексозодифосфатом и триозомонофосфатом (диоксиацетонфосфатом), причем одним лишь изменением температуры это равновесие удавалось сильно смещать как в сторону гидролиза, так равно и в сторону синтеза.

Новое и притом весьма интересное направление получило изучение обратимых ферментативных процессов на основе представлений, развиваемых в последнее время А. И. Опариным (20), (21)[1]. Согласно этой точке зрения каждый фермент (представления развиты преимущественно по отношению к карбогидразазам) обладает обратимым действием, основанным на законе действия масс. Однако в обычных растворах, какими пользуются для изучения работы ферментных препаратов, положение равновесия настолько сдвинуто в сторону гидролиза, что даже сильное повышение в растворе продуктов гидролиза способно лишь весьма незначительно смещать это равновесие в сторону синтеза. Нужны исключительные условия концентрации продуктов гидролиза для того, чтобы произошел заметный сдвиг в сторону синтеза. Такие условия редко могут быть достигнуты в растворах, но сравнительно легко осуществляются на поверхностях макрогетерогенных коллоидных систем при одновременной адсорбции на них фермента и продуктов гидролиза. При этом, если данная адсорбирующая поверхность притягивает к себе и удерживает лишь фермент и продукты гидролиза, а продукты синтеза отдает в раствор, — действие фермента на такой поверхности мо-

---

[1] См. также доклад его на Углеводной конференции Менделеевского общества, Москва, 1934 г.

жет оказаться односторонне синтезирующим. На основании этого следует вывод, что направленность ферментативного процесса зависит не от концентрации субстрата в объеме, а от его концентрации на поверхности. Как уже было отмечено, в гомогенных растворах, какими являются растворы ферментных препаратов, необходимой для адсорбции поверхности чаще всего не находится, вследствие чего и условия для синтеза оказываются крайне затрудненными. Тем не менее и здесь в случае образования подходящих гетерогенных систем синтезирующее действие фермента может быть значительно повышено.

Это положение можно иллюстрировать на примере инвертазы, синтезирующее действие которой составляет предмет изучения энзимологического отдела Института биохимии Академии Наук СССР. В 1931 г А. Опариным и А. Курсановым были описаны опыты, в которых действием препарата дрожжевой инвертазы на смесь инвертного сахара и солей фосфорной кислоты удавалось вызывать синтез ди- или может быть полисахарида. Химическая природа его осталась не доказанной, но он оказался весьма близким по своим свойствам к тростниковому сахару. Продолжая эту работу, А. И. Опарин и его сотрудники могли в дальнейшем констатировать, что этот синтетический процесс почти всегда проходит по типу одновершинной кривой с максимумом, приходящим в среднем на 7—9-й день, и вслед за этим с быстрым обратным разложением до нуля. После этого в исследуемых растворах синтез уже не возобновляется. Впрочем срок максимального накопления синтетического продукта может весьма сильно варьировать и зависит, как это было найдено, не от количества накопленного продукта, а от характера препарата, или если работа велась с дрожжевым автолизатом, то от возраста этого автолизата. В более старых автолизатах максимальное накопление заканчивается уже на 2—3-й день, достигая за это время всего лишь $1^1/_2$—$2^0/_0$ синтетического продукта; в более молодых автолизатах этот процесс продолжается 9 и более дней, достигая 6—$7^0/_0$ синтетического продукта, после чего и здесь наступает быстрое разложение.

Примерно то же самое было получено и в опытах А. Н. Лебедева и А. Дикановой (11), повторявших наши опыты с синтезом сахарозы Из трех поставленных ими опытов в двух они показали синтез легко гидролизуемого «дисахарида», доходившего в одном из опытов до $2.9^0/_0$, а в другом до $3^0/_0$ от взятого инверта. Как и в наших позднейших опытах, у Лебедева и Дикановой синтез проявлялся лишь в первые дни (в одном опыте 8 дней, а в другом 17), после чего наступало обратное разложение, и синтез уже не возобновлялся даже при сохранении смеси более года. Хотя вывод, который делают из своих опытов Лебедев и Диканова является отрицательным, мы считаем все же, что полученные ими результаты, как равно и позднейшие исследования А. Опарина и его сотрудников, отражают вполне определенное синтези-

рующее действие инвертазы, волнообразный характер которого может быть объяснен теорией гетерогенной адсорбции, развитой А. И. Опариным. Действительно, если при растворении препарата инвертазы в воде или при употреблении свежих дрожжевых автолизатов часть коллоидов остается в макрогетерогенном состоянии, способном к тому же к избирательной адсорбции из раствора фермента и инвертного сахара, условия для синтеза сахарозы должны оказаться подходящими. При длительном стоянии таких смесей необходимая гетерогенность постепенно исчезает отчасти из-за увеличения дисперсности коллоидальной фазы, отчасти же в результате протеолитического распада макрогетерогенных коллоидов. Как результат, мы наблюдаем прекращение синтетических процессов и быстрое разложение образовавшегося продукта.

Указанная схема может быть иллюстрирована рядом опытов; здесь мы остановимся лишь на некоторых результатах, полученных в настоящее время в лаборатории Института биохимии Академии Наук СССР Н. Н. Дьячковым. Стремясь создать необходимую гетерогенность в реакционной смеси Н. Дьячков применял сырой яичный белок, который он за сутки до начала опыта в качестве адсорбента приводил в соприкосновение с раствором активной дрожжевой инвертазы. После этого к белку прибавлялся сахар и через различные промежутки времени производились определения редуцирующих сахаров до и после 5 мин. гидролиза 2% HCl. При такой постановке уже через 25—30 мин. удавалось обычно констатировать появление синтетического продукта, содержание которого через несколько часов доходило до 4, а иногда и 6%, и удерживалось на этом уровне различно долгое время в зависимости от скорости растворения альбумина в воде, после чего наступало обратное разложение. Дальше и устойчивее, а именно в течение нескольких дней, сохраняется синтезированный продукт при соблюдении поверхности раздела между альбумином, пропитанным инвертазой, и раствором инвертного сахара. Такое разделение может быть достигнуто например осторожным нанесением слоя яичного белка и инвертазы на раствор инвертного сахара или разделением обоих растворов коллодиумовой перепонкой. Сходные результаты получаются также при осаждении солевого раствора глобулина (эдестин из конопли) водным раствором инвертазы. При этом фермент, адсорбированный на образовавшемся осадке, приобретает обратимое действие, каковое и приводит в короткий срок к образованию 4—5% и даже 7% синтетического продукта.

Благоприятное влияние гетерогенности среды на синтезирующее действие ферментов не ограничивается одной инвертазой, а имеет повидимому более широкое значение. В пользу этого говорят например опыты Х. Марстона (H. Marston) (15), в которых удавалось значительно усилить синтетический процесс в смеси продуктов белкового распада и трипсина посредством добавления к гомогенному раствору коллоидальных эмульсий.

Наконец отметим также, что волнообразный ход синтезирующего действия фермента в искусственных условиях был установлен и Д. М. Михлиным (17) на примере синтеза молочного сахара, что следовательно позволяет нам придать более общее значение данному явлению.

Указанные представления относительно обратимости ферментного действия в зависимости от состояния фермента, могут быть с известной долей вероятности интерполированы и в направлении живой клетки. Однако следует заметить, что специальных исследований этого вопроса далеко недостаточно, благодаря чему вся теория, несмотря на ее подкупающую логичность страдает некоторой односторонностью, так как она развита преимущественно на ряде физико-химических представлений и иллюстрирована некоторыми опытами в искусственной среде. Поэтому несколько более полный обзор современных знаний в области ферментативных синтезов в живой клетке, позволит точнее оценить данную теорию в отношении ее применимости к обратимым ферментативным процессам в живом организме.

Наиболее изученными благодаря своей видимости под микроскопом являются, без сомнения, превращения крахмала в растительных клетках. Как известно, синтез крахмального зерна в ассимилирующей клетке всегда происходит в тесном контакте с хлоропластом. Весьма характерно при этом, что локализация синтеза крахмала на хлоропласте имеет место не только во время ассимиляции CO_2, где такой синтез, пожалуй, скорее всего мог быть объяснен скоплением в этих местах первичных продуктов ассимиляции; но как показали еще старые опыты Бемса (1833 г.), этот синтез продолжается и в темноте при искусственном кормлении листьев раствором сахара. Точно так же и во всех остальных частях растений, не содержащих хлорофилла, например в корнях, клубнях, семенах, коре и пр., где в известные периоды развития наблюдается усиленное отложение крахмала, рост крахмальных зерен всегда происходит в контакте с пластидами.

Эти и многие другие факты привели цитологов к представлению, что синтетические процессы не рассеяны в клетках диффузно, а сосредоточены на поверхностях специальных образований, каковыми обычно являются митохондрии или их видоизменения — пластиды у высших растений и хондрисомы у грибов (см. например Г. Левицкий, А. Гиллермон (A. Guillermond) (5), Е. Мак-Бридль (E. Mac Bridl) (14) и др.). Действительно, в настоящее время можно считать установленным, что поверхности этих телец служат местом синтеза не только для крахмала, но также для жира (2, 10), а равно для протеина (15) и др. Е. Хорнинг (E. Horning) (8) приводит описание синтетических процессов, наблюдаемых у паразитической protozoa Opaline. Воспринимая питательный раствор из окружающей среды путем пассивного эндосмоса, этот организм сосредоточивает в этот период значительные количества митохонд-

рий в поверхностных слоях протоплазмы. При этом путем непосредственного наблюдения в микроскоп удается обнаружить, что на поверхности митохондрий начинается синтез пластических продуктов (преимущественно белков), скопление которых достигает определенной величины, после чего синтезированный материал отделяется от митохондрий и уносится вглубь клеток.

Что касается химических и физических свойств митохондрий, то согласно данным, приводимым Е. Хорнингом (8), Майер (1914), первый высказался в пользу липоидного строения этих образований, указав одновременно на богатство митохондрий фосфором.

Позднее Х. Марстон (H. Marston) (1933) также указывал на присутствие липоидов в митохондриях, которые по его представлениям образуют слой на поверхности этих телец. В том же смысле высказывался Т. Роберстон (T. Roberston) (24). Подчеркивая протеино-липоидную природу митохондрий, он указывал, что липоидная оболочка на их поверхности благодаря несмешиваемости ее с водой оказывается особенно благоприятной средой для осуществления таких ферментативных синтезов, которые проходят с отнятием воды.

Одновременно с этим складывалось представление, что синтезирующее свойство митохондрий и родственных им образований основано на явлениях избирательной адсорбции, благодаря которой на поверхностях этих синтетических центров сосредоточиваются весьма высокие концентрации веществ из окружающей плазмы Е. Кодри (E. Cowdry) (4). Кроме того принимается, что митохондрии удерживают на себе также и значительные запасы ферментов, которые по мнению некоторых ученых образуются непосредственно в теле самих митохондрий (15).

Таким образом цитологи независимо от специальных энзимологических исследований пришли на основании прямых своих наблюдений к представлению, что ферментативные синтезы в клетках осуществляются на поверхностях, адсорбирующих вещества и соответствующие ферменты.

Что касается обратного, т. е. гидролизующего действия ферментов, то согласно специальным цитологическим наблюдениям это действие осуществляется ферментами, перешедшими в раствор. Особенно показательны в этом отношении наблюдения Е. Хорнинга (8) над пищеварительным актом у инфузории из группы *Heterotricha*. Названный автор установил, что заглоченная твердая пища остается первое время в непосредственном контакте с плазмой и что при этом пищеварения не происходит. Вскоре однако заключенный материал оказывается окруженным приблизившимися к нему митохондриями, и одновременно с этим вокруг пищи начинается отделение свободной воды, которое приводит к образованию пищеварительной вакуоли. Митохондрии при этом не переходят в вакуолю, а остаются на границе между этой последней и протоплазмой. Размеры их однако заметно уменьшаются, так как значительная часть содержимого митохондрий переходит в раствор в пищевари-

тельную вакуолю. Одновременно с этим начинается гидролитический ферментативный распад заключенного материала.

Другой весьма показательный пример такого же рода дают исследования Е. Хорнинга и А. Петри (7) над гидролизом крахмала и гемицеллюлоз в прорастающих семенах злаков (кукуруза, ячмень и пшеница). Названные авторы показали, что при прорастании семян митохондрии в большом количестве переходят из клеток скутеллюма в клетки эндосперма, где они сосредоточиваются вокруг крахмальных зерен и по внутренней поверхности клеточных оболочек. Первое время и здесь приближение митохондрий к пластическим образованиям клеток не влечет за собой заметных изменений. Однако вскоре начинается растворение митохондрий, и одновременно с этим на крахмальных зернах появляются кариозные фигуры, а клеточные оболочки заметно утончаются.

Приведенные примеры достаточно убедительно говорят о том, что перешедшие в раствор ферменты приобретают одностороннее гидролизующее действие. Мы видим таким образом, что обратимость ферментного действия в живой клетке в основном связана с теми же явлениями адсорбции фермента и субстрата на поверхностях гетерогенных систем и их переходом в гомогенный раствор, которые положены в настоящее время в основу учения об обратимом ферментном действии в искусственных условиях.

Институт биохимии.
Академия Наук СССР.

ЛИТЕРАТУРА

1. Abelous I. et Ribaut H., C. R., Soc. Biol. 52, 543, 1900.
2. Благовещенский А., Bioch. Journ., 1931.
3. Bourquelot E. et Bridl, C. R., 154, 1375 и 1707; 155, 86, 319, 437, 523, 731, 854, 1552, 1912; C. R., 157, 732, 1913.
4. Cowdry E. V., Am. N., 60, 157, 1926 (цитир. по E. Horning).
5. Guillermont A., C. R., Soc. Biol., 85, 466, 1921.
6. Hill A. C., Journ. Chem. Soc., 73, 634, 1898.
7. Horning E. S. a. Petrie A., Proc. Roy. Soc. (B), 102, 188, 1927.
8. Horning E. S., Ergebn. d. Enzymforsch., 11, 336, 1933.
9. Ильин В., Bioch. ZS., 132, 494, 1922.
10. Kater I. M., Anat. Rec., 52, 55, 1932 (цитир. по E. Horning).
11. Лебедев А. и Диканова А., Hoppe-Seiers ZS., 231, 271, 1935.
12. Левитский Г., Ber. d. deutsch. Botan. Ges., 28, 1910.
13. Lundegoårdh H., Jahrb. f. Wiss. Botan., 53, 421, 1913.
14. Mac Bridl E. (цитир. по E. Horning).
15. Marston H., Austr. J. exp. Biol. med. Sci., 3, 233, 1926.
16. Meyerhof u. Lohmann, 1934.
17. Михлин Д. и Фетисова, Bioch. ZS., 1935.
18. Molisch H., Ber. Bot. Ges., 39, 1921.
19. Mothes K., Ber. Bot. Ges., 51, 31, 1933.
20. Опарин А. и Курсанов А., Bioch. ZS., 239, 1, 1931.
21. Опарин А., Ergebn. d. Enzymforsch., 1933.

22. Paech K., Planta, 22, 794, 1934.
23. Pringsheim H. u. Leibowitz J., Ber. Chem. Ges., 57, 1576, 1924.
24. Roberston T., Austral. J. exper. Biol. med. Sci., 3, 97 (цитир. по E. Horning).
25. Smith D. M., J. Morph., 52, 485, 1931.
26. Schroeder H. u. Horn T., Bioch. ZS., 130, 165, 1922.
27. Welter A., ZS. f. angew. Chem., 1, 385, 1911.

A. L. KURSANOV. ON THE PROBLEM OF THE REVERSIBLE ACTION OF FERMENTS IN LIVING PLANT CELLS

SUMMARY

Fermentative syntheses are effected with great difficulty in vitro, while in living cells they proceed very quickly. One of the main causes of such a difference is the lack of energy necessary for the majority of fermentative syntheses. A review of the present state of this problems does not allow to establish the sources of energy which could be used for these syntheses; it should be noted, however, that these sources may prove to be rather different forms of energy.

A high concentration ot hydrolytic products is another important condition for the development of the synthetizing action of ferments.

Such a concentration can be but rarely achieved in a homogeneous solution, although it may be rather easily produced by adsorption on the surfaces of heterogeneous systems. The synthethizing action of ferments, according to the conceptions developed by Prof. A. I. Oparin, does not depend on the volume concentration of substances, but on their concentration on the surface.

It is possible to demonstrate by a series of experiments the positive influence of heterogeneity of medium on fermentative syntheses in vitro.

The same conditions of adsorption on heterogeneous surfaces are of importance in fermentative syntheses in the living cell. A review of the literature on cytology leads to the conclusion that mitochondrea and their modification— plastids and chondriosomes, on whose surfaces occurs the selective adsorption of ferments and of corresponding products of transformation, are the centres of synthetic processes. Hydrolytic processes, on the contrary, occur in homogeneous sulution, mitochondria —the bearer of adsorbed ferment — undergoing dissolution for this purpose.

ИЗВЕСТИЯ АКАДЕМИИ НАУК СССР. 1936
BULLETIN DE L'ACADEMIE DES SCIENCES DE L'URSS

Classe des sciences mathématiques et naturelles

Отделение математических и естественных наук

А. ОСТРОВСКИЙ

РОЛЬ БИОХИМИИ В ХЛЕБОПЕЧЕНИИ [1]

(Представлено академиком А. Н. Бахом)

До настоящего времени не ясна биохимическая сущность процессов, протекающих при тестоведении. Ряд фактов показывает, что в этих процессах огромную роль играют ферменты, заключающиеся в исходном сырье, зерне и муке. С этой точки зрения важно для научного понимания технологического процесса изучение ферментов исходного сырья и теста и разработка на этой основе рациональных методов производственного контроля.

I

Развитие советского механизированного хлебопечения характеризуется такими цифрами. Исключительно для обслуживания городского населения за последние 10 лет выстроено 255 хлебозаводов, оснащенных современными хлебопекарными машинами и свыше 200 крупных механизированных пекарень. Общая суточная производительность этих предприятий достигает почти 25 000 т печеного хлеба. По последним сообщениям Наркома пищевой промышленности Ан. Ив. Микояна $^3/_4$ всего городского хлебопечения в настоящее время механизировано. Представление о действительной производительности действующих заводов и пекарень можно получить из таких выкладок. Если представить всю годовую продукцию нашего механизированного хлебопечения в виде непрерывно выходящего из печи каравая квадратного сечения с ребром в 0.5 м, то такой своеобразной лентой можно трижды опоясать земной шар по экватору.

---

[1] Роль биохимии в хлебопечении мною будет посильно освещена лишь на основе тех работ, с которыми я непосредственно связан по своей работе на производстве (Ростов/Д., Хлебозавод), и по работе в Технологическом отделе ВНИИХ в качестве его заведующего.

Считаю целесообразным своему сообщению по существу темы предпослать краткое описание динамики и современного состояния советского механизированного хлебопечения. Побуждает меня к этому тот интерес, который проявляют — как это явствует из выступления акад. А. Н. Баха (заседание 27/I 1936 г.) — работники Академии Наук к этой молодой и в то же время исключительно важной отрасли пищевой промышленности нашего Союза.

Промышленность эта развилась с исключительной быстротой — в буквальном смысле за 10 лет, так как впервые мощные заводы мы стали строить с 1925 г. До революции в старой России механизированные предприятия считались единицами (четыре-пять небольших предприятий на всю Россию).

Для вновь организованной промышленности важно отметить тот факт, что развитие ее шло на базе собственного машиностроения. Заводы мы строим своими силами, оборудуем своими машинами и обслуживаем своими советскими специалистами. Победа первой пятилетки в деле создания в стране собственной машиностроительной базы обусловила поступательный ход всех отраслей народного хозяйства в том числе и новой, только что народившейся отрасли пищевой промышленности.

Как далеко мы шагнули вперед в деле механизированного хлебопечения можно судить по состоянию этой промышленности в Москве. До революции в столице имелось до 2 000 кустарных мелких пекарень с суточной производительностью всего в 1 000 т. В настоящее же время хлебопечение Москвы полностью механизировано: город располагает 14 хлебозаводами и несколькими десятками механизированных пекарень с общей суточной производительностью в 2.5 раза больше московских дореволюционных пекарень. Из 14 хлебозаводов Москвы 11 являются хлебозаводами-автоматами (9 из них оборудованы машинами, полностью произведенными в СССР).

В соответствии с директивами партии стопроцентная механизация хлебопечения охватывает как столичные и крупные города СССР, так и целые промышленные районы (Донбасс, Урал и т. д.).

Если до последнего времени мы проектировали и строили хлебозаводы большой мощности (например целый ряд московских заводов имеет производительность около 250 т в сутки, а ростовский — до 340 т) и рассчитывали их на односортную, реже двухсортную продукцию, то теперь — в связи с изменением системы снабжения населения хлебом (отмена карточек) и с увеличением разнообразия в ассортименте хлебных изделий — мы переходим на проектирование заводов с относительно небольшой мощностью (до 40 т), но рассчитанных на выпуск самого широкого ассортимента хлебно-булочных и сдобных изделий. Одновременно с заводами при них проектируются и магазины для того, чтобы изделия завода доходили до потребителя в наиболее свежем состоянии. Первые такие заводы ныне строятся в Ленинграде.

Для характеристики современного состояния советской хлебопекарной промышленности показателен масштаб работы по подготовке кадров для нее и масштаб исследовательской работы. В Москве работает Московский инженерно-технологический институт хлебопечения, уже выпускающий своих питомцев. Одна из ведущих кафедр этого института — кафедра технологии хлебопечения (руковод инженер-технолог Л. Я. Ауэрман) — в настоящее время наряду с учебной работой ведет большую

исследовательскую работу по своей специальности, вовлекая в эту работу студентов-дипломантов.

Кроме упомянутого Института промышленность располагает четырьмя техникумами. А для разрешения своих вопросов, требующих исследовательской опытной проработки, организован в Москве специальный Научно-исследовательский институт (ВНИИХ) с пятью отделами и опытным заводом.

Помимо этого промышленность располагает примерно 350 производственными лабораториями и десятком центральных лабораторий при трестах, среди которых имеются прекрасно оборудованные и хорошо работающие, например Ленинградская лаборатория, Азово-Черноморская и др.

Таково в немногих словах современное состояние хлебопекарной промышленности в нашей стране.

II

Вместе с ростом механизированного хлебопечения изменились и требования, предъявляемые к контролю хлебопекарного производства.

Если раньше, при кустарном хлебопечении, пекарь мог обходиться чисто эмпирическими навыками в работе, то теперь, при механизации всего производства, его укрупнении и поточности самого процесса, является неотложной необходимостью организация производственного контроля на строго научных основах. В противном случае возможны тяжелые последствия для производства в смысле массового брака хлеба.

Качество хлеба есть функция многих переменных, большинство которых лежит вне хлебопека, и в основном оно предрешается, во-первых, сортом зерна, а во-вторых, полем, теми естественно-историческими условиями, в каких оно будет произрастать, агромероприятиями человека и т. д. Современные исследования показывают, что в этом случае приходится считаться даже с микроклиматом, микрорельефом и т. д., что самое понятие «естественно-исторические условия» должно быть достаточно дифференцированным для данного района.

Значение всех этих факторов исключительно велико.

За полем следует мельница, которая будет перерабатывать зерно в муку; и от того, как она это сделает, будет зависеть в некоторой степени и качество хлеба.

А за мельницей идет хлебозавод — главный потребитель муки. Его влияние на качество хлеба будет особо заметным.

Таким образом проблема качества хлеба решается триадой: поле — мельница — хлебозавод, и технолог, получив партию муки, должен суметь оценить ее в отношении хлебопекарных качеств, а для этого он должен располагать надежными методами. Получив правильное представление о свойствах данной муки, технолог должен дальше использовать эту муку наиболее рационально. Рациональное использование

муки на хлебозаводе заключается в умении со стороны мастера заставить муку проявить в максимуме все заложенные в ней достоинства, смягчив недостатки, если таковые окажутся.

Вопрос таким образом представляется весьма сложным. Для правильного решения его современный технолог-хлебопек должен обладать широкой образовательной базой и в первую очередь должен знать основы биохимии хлебопекарного дела и практически уметь использовать эти знания. Без понимания биохимической сущности протекающих в тесте явлений нельзя уверенно управлять заводским процессом. Поклонники старины и голой эмпирики в хлебопекарном производстве могут не согласиться с этим, сославшись на работу старого кустаря-пекаря, человека, как правило, весьма далекого от знания научных основ хлебопечения и тем не менее выпекавшего превосходный хлеб.

Но, во-первых, он далеко не всегда выпекал превосходный хлеб, а во-вторых, не нужно забывать разницы в масштабах работы кустаря и современного хлебозавода. Если небольшая кустарная пекарня рисковала 3—4 мешками муки за сутки работы, то современный завод рискует сотнями таких мешков, а большой завод даже тысячью. И если дефект в работе маленькой кустарной пекарни мог пройти незамеченным, или замеченным небольшим числом потребителей, то ошибка технолога современного хлебозавода делается сразу же заметной, потому что завод в настоящее время является монополистом на городском хлебном рынке, и часто он один кормит хлебом целый город или большой район города. В этом случае технологическая ошибка завода может приобрести политическое значение. Одной эмпирикой тут обойтись нельзя.

Мне памятен в истории молодого советского хлебопечения 1930 год когда наши кустари-практики, к этому времени уже в значительной своей массе перекочевавшие на работу по хлебозаводам, здесь, в условиях массового производства, столкнулись с так называемой солоделой мукой, т. е. мукой, смолотой из проросшего зерна. Метеорологические условия уборки урожая в 1930 г. были неблагоприятными, сроки уборки растянутыми, и в результате всего этого явление солоделости муки приняло массовый характер, особенно на Северном Кавказе, в Поволжье и Украине.

По всем показателям ОСТ солоделая мука являлась «нормальной» мукой, но хлеб из нее зачастую никуда не годился. Основной дефект его заключался в пониженной эластичности мякиша, иногда столь ярко выраженной, что хлеб казался сырым, непропеченным. Потребитель так и оценивал его, как сырой хлеб, хотя при самом добросовестном анализе влаги в нем оказывалось не больше, а чаще даже меньше, чем в обычном, нормальном хлебе, потому что пекаря, борясь с «сыропеклостью» муки, удлиняли выпечку такого хлеба.

Указанное явление в 1930 г. я наблюдал на Ростовском хлебозаводе, ныне самом мощном в нашем Союзе. И вот нужно было видеть, как

растерялись старые мастера этого завода — в прошлом кустари-хлебопеки. Они встретились с явлением, которое для них оказалось новым, опрокинувшим все их обычные представления о поведении доброй северокавказской муки. Меняя вслепую технологический процесс, они изо дня в день начали выпускать массовый брак, а среди этих мастеров были отдельные работники несомненно художники своего дела. Впервые ростовские мастера-практики встретились в своей работе с незримым врагом в муке — декстриноген-амилазой — и первое время оказались беспомощными против ее агрессии в силу незнания существа происходящего перед ними явления. Нужно сказать что солоделая мука получила тогда довольно значительное распространение и это создало большие затруднения для работников хлебопечения.

Повторялось это бездействие и в последующие годы, но уже в несколько меньшем масштабе. К этому времени промышленность нашла способы приготовления нормального хлеба из солоделой муки.

Насколько мне известно, я первым тогда в Союзе провел работу, посвященную этому вопросу (1).

Выводы, к которым я пришел, были следующие:

1. Причиной массового брака хлеба за указанный период времени на Ростовском хлебозаводе была солоделая мука, для которой характерным аналитическим признаком является повышенная диастатическая активность, определяемая по Рамзею.

2. Пониженная эластичность мякиша обусловливается накоплением декстринов в хлебе из солоделой муки (в моих опытах до 20% декстринов на сухое вещество хлеба, при содержании декстринов в нормальном хлебе около 7%).

3. Накопление декстринов, главным образом идет в печи, в температурном интервале внутри мякиша 50—55° С.

4. Количество декстринов в хлебе из солоделой муки резко уменьшается (доходит до нормы здоровой муки), если процесс тестоведения у нас проходит при более кислой реакции среды pH = 4.8 (и ниже). В этом случае афоризм: «Кислота есть лучший друг пекаря» получает свой глубокий смысл.

5. Для устранения нежелательных явлений в хлебе из солоделой муки необходимо:

а) валку муки осуществлять с учетом ее диастатической активности;

б) выпечку производить на «жидких» хмелевых дрожжах;

в) считать муку 85% выхода (пшеничную) с диастатической активностью свыше 270 единиц по Рамзею подозрительной в смысле солоделости и т. д.

В настоящее время мне известно 18 русских работ (с 1931 г.) посвященных этому весьма важному вопросу, которые частью подтвердили все выводы моей работы, частью — в смысле трактовки сущности протекающих при этом амилолитических процессов — пошли дальше.

На роли и значении амилолитических ферментов в хлебопечении я позволю себе несколько остановиться в силу того интереса — теоретического и практического,— какой они представляют для технолога-хлебопека.

В своей практике я сталкивался с таким явлением, когда мука имела относительно высокую диастатическую активность, например 300 единиц по Рамзею, и даже несколько выше, а хлеб получался с сухим, эластичным мякишем при обычном процессе тестоведения на прессованных дрожжах, т. е. при pH теста около 5.6—5.7.

По наблюдениям техноруков московских хлебозаводов часто повышенной диастатической активностью обладает Покровская (Волжская) мука, дающая, как правило, хороший хлеб.

Иными словами, определение диастатической активности по Рамзею не всегда дает ясное представление о характере действия амилазы зерна на тесто.

Ключ к пониманию этого «аномального» явления дает теория существования в проросшем зерне двух амилаз, обладающих неодинаковым действием на крахмал: α-амилазы и β-амилазы. В покоящемся же зерне имеется лишь одна амилаза, именно β-амилаза.

По представлению Ольсона действие обоих ферментов на крахмал протекает параллельно, но различно. β-амилаза образует из крахмала β-мальтозу и оставляет незатронутым предельный декстрин, красящийся иодом в синий цвет, а α-амилаза образует α-мальтозу и декстрины, не окрашивающиеся иодом в синий цвет. Последний фермент в начальной фазе процесса дает много декстринов и относительно мало мальтозы, β-мальтоза, наоборот, дает большое количество мальтозы. Потому-то эти ферменты еще называются декстриноген-амилазой и сахароген-амилазой.

При прорастании зерна вначале довольно равномерно возрастает активность β-амилазы, или сахароген-амилазы, и на определенном этапе появляется декстриноген-амилаза.

Ольсон, основываясь на одинаковом отношении обеих амилаз к температуре и реакции среды, выделил их в отдельности из ячменного солода.

Декстриноген-амилаза относительно термостабильна.

Клинкенберг, так же как и Ольсон, пришел к заключению о наличии в солодовой амилазе двух ферментов. В виду того, что β-амилазу из солодового экстракта получить в чистом виде трудно (так как подкисление экстракта не освобождает его нацело от α-амилазы), то Клинкенберг рекомендует β-амилазу получать из непроросшего зерна, в котором α-амилазы не имеется. Последнюю же он рекомендует получать из солодового экстракта осаждением спиртом при последующем нагревании растворимого осадка ферментов в воде при температуре 70° С в течение 15 мин. За это время при указанной температуре

β-амилаза целиком разрушается, а α-амилаза остается с понижением своей активности на 25%. Оба фермента характеризуются свойством, общим всем ферментам,— строгой специфичностью действия на крахмал: каждый фермент расщепляет мицеллу крахмала в строго определенных точках. По Клинкенбергу α-амилаза нарушает гидрофильные связи мицеллы, которые одновременно являются и ее адсорбционными центрами; β-амилаза же, наоборот, разбивает мицеллу крахмала по ее гидрофобным связям.

Этот факт наличия двух амилаз в проросшем зерне и их узкая специфичность действия дают объяснение указанным выше «аномалиям» при диагностике муки по Рамзею и позволяют иначе подойти к сущности явления, происходящего в мякише хлеба из солоделой муки в процессе его выпечки.

В руководимом мною Технологическом отделе ВНИИХ — ныне он именуется отделом производственного контроля — аспирантка института Е. Е. Онищенко выполнила работу на тему «Значения α- и β-амилаз в процессе хлебопечения».

Работа велась при ближайшем участии проф. А. И. Опарина, сотрудничество которого в качестве консультанта Технологического отдела ВНИИХ помогало нам должным образом освещать многогранную биохимическую сущность технологического процесса при разных условиях его протекания. В этой работе автор поставил своей задачей путем прямого эксперимента показать действие каждого из названных ферментов на хлеб и именно на его мякиш.

Им были получены препараты обеих амилаз (по Клинкенбергу), которые и вносились в тесто в разных количествах.

В хлебах после выпечки автор определял содержание отдельных углеводов, в частности декстринов, и делал органолептическую оценку состояния мякиша в смысле его эластичности.

Результаты получились следующие. Хлеб с препаратом α-амилазы по внешним признакам мог быть охарактеризован, как прекрасный во всех отношениях хлеб. Он подъемист, обладал живой румяной коркой, и вообще весь вид его говорил о его добрых качествах.

Но в разрезе он оказался резко дефективным: мякиш его почти был лишен эластичности и производил впечатление совершенно непропеченного хлеба.

Хлеб, испеченный с продажным препаратом декстрина (последний был внесен в количестве 20% от веса муки), также давал мякиш с пониженной эластичностью, но он был значительно менее дефективен, чем первый хлеб, хотя декстринов в нем было в 1.5 раза больше.

Это весьма знаменательный факт. Он говорит о том, что в дефективности хлеба в случае солоделой муки повинны не столько декстрины, в избыточном количестве образовавшиеся в хлебе, сколько общее состояние крахмала, испытавшего на себе воздействие α-амилазы.

А. И. Опарин по данному вопросу высказал ту точку зрения, что опыты, проведенные Е. Г. Онищенко, согласуются с суждениями Клинкенберга.

С точки зрения последнего, специфичность действия α-амилазы проявляется в ее определенном избирательном действии на крахмал. Именно, α-амилаза разбивает гидрофильные связи крахмальной мицеллы, в силу чего крахмал теряет способность удерживать воду в связанном состоянии. Из связанной вода переходит в свободную, что нами воспринимается как непропеченность мякиша.

Должен отметить, что проблема связанной воды в хлебопечении выдвинута и плодотворно разрабатывается коллоидным отделом ВНИИХ.

Хлеб, испеченный с препаратом β-амилазы, обладал совершенно противоположными качествами по сравнению с первым, наиболее дефективным, хлебом. β-амилаза оказала иное действие на свойства мякиша, который в этом случае получился безупречным по эластичности, сухости и степени разрыхленности. Фермент β-амилаза в противоположность α-амилазе оказывается улучшителем хлеба, даже в том случае, когда вносится в тесто в избытке.

Внесением молочной кислоты в тесто вместе с препаратом α-амилазы парализовано действие последнего фермента.

Интересно отметить тот факт, что диастатическая активность муки, в которую был предварительно внесен препарат α-амилазы, определявшаяся по Рамзею, абсолютно была не высокой — около 230 единиц по Рамзею (правда, для муки 75% выхода), в то же время хлеб, как уже отмечалось, был резко дефективным.

Такое несовпадение между данными анализа и качеством продукта своего рода «ножницы», лишний раз подтверждает, что не всегда метод Рамзея оказывается достаточным для целей диагностики и что с этой точки зрения, метод Вольгемута [модификацию этого метода см. у А. И. Опарина (2)], а также метод Хрзаща-Проскурякова в известных случаях могут оказаться более надежными.

Здесь я должен упомянуть о работе Н. И. Проскурякова и Тишиной (3), изучавших динамику диастатической активности пшениц в разных стадиях прорастания. Авторы показали, что 24—26-часовая замочка зерна заметно повышает лишь сахарофицирующую деятельность зерна, но фермент типа α-амилазы при этом не обнаруживается.

Итак, для данного момента, повидимому надлежит считать установленным, что в проросшем зерне амилолитическая деятельность его обусловливается двумя ферментами: декстриноген-амилазой и сахароген-амилазой, что дефективность хлеба из солоделой муки есть следствие работы первого фермента, что отрицательное действие декстриноген-амилазы обусловливается не столько накопленными декстринами, сколько резким изменением в гидрофильных свойствах крахмала, и что метод Рамзея не всегда может давать технологу верное представление о ха-

рактере амилолитической деятельности ферментов в данном образце муки.

Я несколько остановился на этом вопросе потому, что амилолитическими ферментами муки предопределяется одно из важнейших ее свойств — ее газообразующая (а частью и водоудерживающая) сила, под которой разумеется способность муки обеспечивать дрожжевые клетки количеством сахаров, необходимым для их жизнедеятельности.

Встречаются муки с резко пониженной диастатической способностью так называемые «крепкие на жар» муки, дающие «мертвый товар», недостаточно хорошо разрыхленный, с бледной, неживой коркой.

И, наоборот, встречаются муки с повышенной диастатической активностью, которые в данном случае будут только приветствоваться пекарем, а в другом — вызывать в нем совершенно обратные чувства.

Отсюда становится совершенно очевидной вся значимость биохимического контроля сырья в отношении этого показателя, позволяющего поставить правильный диагноз будущему поведению амилолитических ферментов в процессе тестоведения и выпечки.

В данном случае метод Рамзея в сочетании с модифицированным методом Вольгемута или в сочетании с определением пептизирующей способности муки может достаточно правильно ориентировать технолога.

Для ускорения определения декстриноген-амилазы и при массовых определениях этого показателя может быть применен поляриметрический метод Пельшенке, только «нормы», предполагаемые последним в отношении углов вращения для наших русских мук, повидимому должны быть пересмотрены.

III

В 1934 г. мы получили возможность второй раз практически ознакомиться с важной ролью ферментов муки, но только при производстве макарон, а не хлеба.

В этом году, а также и в 1933 отдельные макаронные фабрики нашего Союза стали выпускать массовый брак: темные макароны. Мука для макарон применяется малых выходов (75% и ниже), а макароны получались из нее темными. Темнели макароны в процессе сушки. Макаронная промышленность обратилась во ВНИИХ с просьбой выяснить причину этого явления для его устранения. Эта работа мною была выполнена совместно с З. И. Древаль и при консультации А. И. Опарина. Нетрудно было установить ферментативный характер этого явления и природу самого фермента — виновника потемнения макарон,— так как в литературе имеются определенные указания на наличие в муке такого фермента, именно, фермента из группы десмолаз-тирозиназы (Бертран и Муттермильх). Фермент оказывает специфическое действие на аминокислоту — тирозин (в аэробных условиях), — окисляя последний в темноокрашенные продукты, так называемые меланины.

Названными авторами было установлено, что для потемнения теста одной тирозиназы недостаточно: обязательно должен быть определенный объект ее действия — тирозин, а так как последний есть продукт протеолитического расщепления белка, то, следовательно, в потемнении макаронного теста повинны не в меньшей мере и протеолитические ферменты.

В виду того что наша работа имеет быть напечатанной в одном из ближайших номером журнала Биохимия, я здесь ограничусь самым кратким изложением полученных нами результатов.

Было установлено, что

1. Потемнение макарон в процессе их приготовления является процессом ферментативным.

2. Он вызывается деятельностью двух ферментных групп: с одной стороны, тирозиназы и, с другой стороны, протеолитическим ферментом из группы полипептидаз и в частности, вероятно, тирозино-карбокси-полипептидазы, и является окислительным процессом.

Для уточнения природы действующего в данном случае фермента (или ферментов), гидролизующего белковую молекулу, нами было поставлено определение протеаз по двум методам: по методу Баха и Опарина и по методу В. Сляйка.

По первому методу, как известно, об активности протеаз мы судим по убыли белка в процессе протеолиза; по второму же методу активность протеолитических ферментов будет характеризоваться увеличением аминного азота.

Современное представление о растительных протеазах делит последние на две основные группы: на протеиназы и на полипептидазы.

Первые ведут расщепление белка до полипептидов. Полипептидазы же расщепляют последние до аминокислот. В зависимости от места действия фермента в молекуле полипептида полипептидазы в свою очередь делятся на карбоксиполипептидазы (они отщепляют от полипептида аминокислоты, несущие свободный карбоксил) и на аминополипептидазы (они отщепляют от полипептида аминокислоты со свободной аминогруппой).

В дрожжах, а также в ростках ячменя и в солоде установлено наличие дипептидазы, расщепляющей дипептиды до аминокислот. Таким образом в соответствии с этим представлением о делении растительных протеаз метод Баха и Опарина будет нам характеризовать активность первой группы протеолитических ферментов, именно протеиназ, в то время как метод В. Сляйка будет характеризовать активность второй группы ферментов полипептидаз.

Было установлено, что образцы муки, не дававшие потемнения в лепешках или мало потемневшие, показали и наименьшее накопление аминного азота. Именно:

Крупчатка (не темнеющая)		0.49 мг аминного N на 10 г муки
Балашовская » »		0.56 » » » » » » »
Самарская (мало темнеющая)	. . .	0.67 » » » » » » »

И, наоборот, образцы, из которых получались сильно темнеющие лепешки, показали и наибольшее содержание аминного азота.

Кременчугская	3.04 мг
Неизвестн. района	3.25 »
Харьковская	4.47 »
Московская	2.35 »

Образцы муки, занимающие промежуточное положение по степени потемнения лепешек, заняли и промежуточное положение по степени накопления аминного азота. При этом оказалось, что наибольшее накопление аминного азота в процессе протеолиза совпадало с появлением в продуктах гидролиза тирозина (если судить по интенсивности окрашивания лепешек).

В начале же опыта в муке мы тирозина не нашли, несмотря на то что отдельные образцы муки содержали заметные количества аминного азота (см. выше), повидимому последний принадлежал не тирозину (тирозин нами определялся в водной мучной вытяжке из «убитой» муки посредством миллонова реактива).

Таким образом можно думать, что в данном случае мы имеем дело с ферментом из группы полипептидаз определенной специфичности.

3. Тирозиназа нами была обнаружена во всех 22 исследованных образцах муки, но процесс потемнения теста наблюдается только в тех образцах, в которых в результате протеолиза обнаруживается субстракт для воздействия тирозиназы (тирозин).

4. Тирозиназа из муки не выделяется обычными методами ее получения: ни водной, ни глицериновой дигестией, в то время, как из отрубей выделение фермента этими методами не представляет особых трудностей.

5. Поскольку тирозиназа обнаружена во всех образцах муки, в том числе и в дающих нормальный продукт, постольку за протеолитическими ферментами надлежит признать наиболее важную роль в процессе потемнения макарон.

6. Поскольку основную роль в процессе потемнения макарон играют полипептиды, постольку метод В. Сляйка по определению активности протеаз муки может давать известное представление о доброкачественности последней (в смысле стабильности цвета).

7. Наиболее удобным и достаточно надежным методом определения доброкачественности муки в отношении изменения цвета выделываемых из нее макарон будет разработанный нами простой метод, так называемый метод лепешек [испытуемая мука замешивается с водой в соотношении 2:1; тесто раскатывается в тонкую (2—3 мм) лепешку, поме-

щаемую на предметном стекле в эксикатор, на дне которого налита вода. Эксикатор ставится на 8—10 час. в термостат (40°), после чего делается заключение о цвете лепешки].

Наша работа позволила сделать и практические выводы в отношении предупредительных мер при использовании муки, богатой указанными ферментами. Меры в основном сводятся к созданию анаэробных условий в первое время сушки макарон, что не представляет особых трудностей с конструктивной и технологической стороны.

А самое правильное, конечно, в случае обнаружения муки, дающей темные макароны (методом лепешек), направлять такую муку на хлебопекарные предприятия, где отрицательная роль тирозиназы проявляется значительно слабее. Происходит это в силу того, что при брожении теста создаются в деже в большей или меньшей мере анаэробные условия (за счет выделяемого CO_2). Окислительный процесс может иметь место при разделке теста и его последующей растопке и в первом периоде выпечки. Но эти фазы кратковременны.

IV

Помимо газообразующей способности муки необходимо считаться и с другим показателем ее качеств, не менее значимым, чем первый, — с ее газоудерживающей способностью, под которой разумеется способность теста удерживает большие или меньшие количества выделяемого CO_2.

Здесь речь идет не о простой адсорбции углекислого газа коллоидными частицами муки, а о пространственном удержании газа белковыми клетками — стенками индивидуальных ячеек бродящего теста. Последние можно грубо сравнить с детскими шарами, наполненными газом. От прочности и эластичности белковых пленок теста будет зависеть степень его подъема и разрыхления. Иными словами, газоудерживающая способность муки предопределяет (при нормальных условиях брожения) структуру теста в смысле величины пор и их строения, а значит и структуру мякиша хлеба и «форму» последнего (в случае если он подовой).

Отсюда факторы, действующие на белки муки в сторону изменения их физического состояния, приобретают исключительное значение.

Из работы по потемнению макарон можно видеть, какую значительную роль могут играть протеолитические ферменты в тесте, но к сожалению, методы по изучению явлений протеолиза в тесте на сегодняшний день мало удовлетворительны. Чаще всего в этом случае применяют химические методы, в частности, например, определяют аминный азот. Но сравнительно недавно проф. А. В. Благовещенский и Соседов показали, что совсем необязательно, чтобы дезагрегация клейковины, происшедшая под воздействием протеолитического фер-

мента, сопровождалась бы и одновременным накоплением аминного азота.

Главный недостаток существующих методов состоит в том, что они основаны на определении конечных продуктов гидролиза. Между тем, для технолога-хлебопека в первую очередь интерес представляют начальные изменения клейковины, потому что если клейковина успела распасться до аминокислот, то это значит, что процесс гидролиза белков зашел настолько далеко, что вообще исчезла всякая возможность получения нормального хлеба (Опарин).

Отсюда совершенно очевидна необходимость в таких методах контроля, посредством которых можно было бы улавливать ферментативное действие на начальной стадии процесса.

С этой точки зрения заслуживает внимания мысль, высказанная А. И. Опариным, о возможности использования для характеристики активности протеолитического фермента муки фаринографа Брабендера.

В развитие этого мною был поставлен опыт по снятию фаринограмм с небродящего теста (на приборе, имеющемся в Технологическом отделе ВНИИХ), но замешенного с автолизатом дрожжей. Фаринограммы снимались тотчас после замеса и второй раз после четырехчасового стояния теста в термостате при 40° С. В качестве контроля имелся кусок теста, замешенного с прокипяченным автолизатом.

Полученные фаринограммы с полной очевидностью говорят о том, что физическое состояние теста в опытном и контрольном кусках резко различно; что если последнее тесто еще сохранило заметную эластичность, то первое таковую утратило совершенно (фаринограмма дает целую сплошную ленту, в которой не заметно отдельных вибраций самопишущего пера).

Я считаю эти предварительные опыты по применению фаринографа в качестве «ферментографа» весьма обнадеживающими по своим результатам, почему я и считаю нужным довести о них до сведения научной общественности.

Помимо перечисленных здесь примеров, показывающих значение биохимии для технолога-хлебопека, можно кратко указать и на целый ряд других вопросов и проблем, стоящих перед биохимией в области нашей промышленности.

В первую очередь сюда надлежит отнести проблему ферментативной характеристики зерна (и муки). Из русских работ здесь надлежит в первую очередь отметить работы акад. А. Н. Баха, А. И. Опарина и др. работы Института зерна, ВНИИХ и др. В одной из своих работ А. И. Опарин высказывается о необходимости «при составлении валок учитывать содержание ферментов в отдельных партиях муки и составлять смесь таким образом, чтобы она в конечном итоге содержала нужное количество указанных ферментов». Тот же исследователь на Всесоюзной конференции микробиологов и биохимиков хлебопечения

5*

в 1932 г. выдвинул проблему изучения изменений свойств клейковины под воздействием ферментов. К сожалению, как я уже отмечал, существующие методы количественного определения отдельных ферментов — в частности протеолитических — не являются достаточно чувствительными, чтобы уловить нужный нам момент, и поэтому неотложной ближайшей задачей является разработка чувствительных и точных методов биохимического контроля.

Огромный интерес теоретический и практический представляет проблема созревания муки, на которой я не мог остановиться из-за недостатка времени. Познание сущности этого процесса позволит нам легче найти способы искусственного созревания муки. С государственной точки зрения эта проблема представляет огромный интерес, так как разрешение ее сулит очень большой экономический эффект.

Наконец, в 1934 г. хлебопекарная промышленность получила сибирское морозобойное зерно. Мука из этого зерна обладает многими отрицательными свойствами (дает «глинистое», плывучее тесто, клейковина отмывается с трудом и в малых количествах и т. д.). Морозобойное зерно — это зерно, захваченное ранними заморозками на корню. Дефективность такого зерна будет тем больше, чем моложе захвачено зерно. Зерно это характеризуется повышенной активностью всего ферментного комплекса: словно замораживание плазмы клеток «развязало» все ферменты зерна. По мере продвижения пшеницы на наш север время от времени нам придется встречаться на практической работе с подобным зерном, и с этой точки зрения биохимическая характеристика морозобойного зерна может представить известный интерес.

Перечень биохимических проблем, имеющих самое ближайшее отношение к хлебопечению, можно продлить, но и перечисленное в достаточной мере характеризует, как мне кажется, исключительную роль биохимии в хлебопечении.

Нередко приходится слышать, что темные вопросы из области технологии хлебопечения получат ясность со стороны коллоидников; разрешение теоретических вопросов придет оттуда, от работников коллоидной химии, работающих в области изучения теста и хлеба. Для нас, работников хлебопечения, в конце концов безразлично, откуда будет внесена ясность в технологический процесс пекаря, и мы с огромным удовлетворением будем приветствовать в этом случае всякий успех на фронте коллоидников, работающих на дежу хлебопека. В частности, например, мы с искренним удовольствием отмечаем продуктивную работу коллоидного отдела ВНИИХ, работающего над актуальными для нашей промышленности проблемами уже указанными выше. Но все же я считаю, и вероятно тут я буду прав, что те или иные изменения коллоидного состояния отдельных компонентов теста суть явления вторичного порядка, вызванные работой незримых, но весьма реальных агентов — энзим, столь щедро и в большом разнообразии

заложенных природой в зерно, а из зерна перешедших в муку. Первичные изменения в данную систему: мука — вода — дрожжи вносят они. Вот почему, как мне кажется, у нас есть все основания признать доминантное значение биохимии в нашей промышленности.

Всесоюзный институт хлебопечения.
Москва.

ЛИТЕРАТУРА

1. Островский А., Сов. мук. и хлеб., № 3, 1931.
2. Опарин А. И., Сов. мук. и хлеб., № 3, 1933.
3. Проскуряков Н. И. и Тишина, ВНИИХ, вып. V, 1933.

A. I. OSTROVSKI. THE ROLE OF BIOCHEMISTRU IN BREAD BAKING

SUMMARY

1. The present state of Soviet mechanized bread baking is one of exceedingly rapid development: during the last ten years, 225 bread factories equipped with modern machines and 206 half-mechanized large bakeries have been built in our Union.

2. With the development of mechanized bread baking, the requirements for control of production have completely changed. While, formerly, in the bread baking of small scale bakeries, the baker might get along with purely empirical rules in his work and his appraisal of the different phases of the process of manufacture, now, with the mechanization of the whole industry, with the enlarging and rationalization of the whole process, it has become absolutely necessary to put the control of the whole manufacturing process on a strictly scientific basis. Otherwise, serious consequences in the sense of an abrupt deterioration of the product are quite possible, and this, under the conditions of mass production of bread in the factory, would be quite painfully felt.

3. The fact that a whole series, of factors many of which lie outside the baking industry, influence the quality of the bread directs special attention, in the control of manufacture, to the flour, to an analysis of the raw material by methods which will reveal the properties of the flour in question.

What has been set forth above allows us, thus, to formulate the problem with which modern technological bread baking is confronted: rational utilization of flour in the bread factory consists in the technologist's knowing how to make the flour manifest all the good qualities inherent in it and how to mitigate, so far as possible, the defects, if any exist.

In other words, the technologist ought to take the individual qualities of the batch of flour into account when he makes dough of it.

4. Such a conception of the problem requires much of the modern technologist in bread baking, both in the sense of knowing the fundamentals of the biochemistry of bread production and in the sense of knowing how practically to apply this knowledge. Unless he knows the essence of the biochemical phenomena that are taking place in the dough, he cannot with any assurance control the manufacturing process. The present control of manufacture in the bread factory is based on the empirical method — that of preliminary trial baking, — and, like every empirical method, it is very far from perfection.

In order to reveal the various baking qualities of the flour, a whole series of test bakings ought to be carried out according to different recipes and variations of rocedure. It follows, of course, that this greatly complicates and prolongs the control over manufacture, which ought to be, first of all, rapid.

In this connection, a theoretical investigator can be of great assistance to the technologist in giving the work of the latter in the factory a theoretical basis.

5. The role of biochemistry in the mastery of the manufacturing processes in the bread factory is exceedingly great, since the raw materials of bread baking, flour and yeast, are very rich in ferments and exert, great influence both positive and negative on the dough, on its porosity, elasticity, «dryness», on its rising qualities, and so on.

The quality of the bread will depend on the nature of the reactions of the ferments in the dough.

6. A study of the amylolytic and proteolytic ferments, which determine the three basic properties of the flour — its capacity for gas formation, gas retention and water retention — is of especial interest. The modern conception of the amylase system compels a revision of the now generally accepted method of Ramsey for determining the diastatic activity of flour and its replacement by others giving better guidance to the technologist.

7. While we may avail ourselves at the present time of more or less dependable methods as regards the analysis of the amylolytic ferments of flour, the same cannot be said with respect to the other ferments of this group, namely, the proteolytic ferments.

«The principal drawback of existing methods consists in the fact that they are based on a determination of the end products of hydrolysis. But it may be remarked that it is the initial changes in gluten that have the greatest interest for the technologist in bread baking, because if the gluten has decomposed into amino-acids, it means that the process of hydrolysis of proteins has gone so far that the possibility

of obtaining bread of normal quality no longer, as a rule, exists» (Oparin).

From this is apparent the necessity of such methods of control of fermentation as will make it possible to detect the fermentative action in its very first stage.

8. All that has been said above gives scientifically based control over the processes of bread baking an exceedingly important place in manufacturing practice.

ИЗВЕСТИЯ АКАДЕМИИ НАУК СССР. 1936
BULLETIN DE L'ACADÉMIE DES SCIENCES DE L'URSS

Classe des sciences mathématiques et naturelles

Отделение математических и естественных наук

А. И. ОПАРИН

БИОХИМИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ЧАЙНОГО ПРОИЗВОДСТВА [1]

(*Представлено академиком* А. Н. Бахом)

Последние исследования показали, что основные качества черного чая, его настоистость, вкус, аромат и т. д. являются результатом ферментативных процессов, протекающих при изготовлении чая. Изучение этих процессов позволило выяснить биохимическую сущность скручивания листа на роллерах, завяливания, ферментации и сушки. Были найдены условия ферментации и сушки чая, которые позволили получать более высококачественный продукт. Разработаны методы объективного контроля.

Наша чайная промышленность почти целиком создалась за время существования Советской власти. Работавшие до войны полукустарные чайные фабрики скорее представляли из себя барскую забаву, чем солидные промышленные предприятия. Никакого серьезного экономического значения они, конечно, не имели. Современная советская чайная промышленность ставит перед собой грандиозную задачу удовлетворить потребность населения всего СССР в чае. Поэтому она развивается исключительно бурными даже на наш масштаб темпами. Если в 1923 г. под чайными плантациями в западной Грузии было занято всего лишь около 1 000 га, то через 10 лет эта площадь возрасла почти до 35 000 га и продолжает расти все более и более ускоренными темпами. В настоящее время мы имеем уже 28 крупных прекрасно оборудованных чайных фабрик, а к 1937 г. их число должно увеличиться до 40.

Но исключительно важное значение в чайном деле имеет не только количественная, но и качественная сторона. И в этом отношении достигнуты уже значительные успехи, но все же необходима дальнейшая работа в указанном направлении. Нет никакого сомнения, что при надлежащей постановке дела качество наших черных чаев может быть еще в значительной степени повышено.

Обычно принято относить качество готового чая за счет сырья — зеленого чайного листа,— поступающего в производство. И действительно, сорт чайного куста, метеорологические и почвенные условия произрастания, применяемые агрикультурные мероприятия и пр. имеют

[1] По результатам работ 1934 и 1935 гг. Доложено на заседании Биологической группы 28 января 1936 г.

весьма существенное влияние на качество готового продукта. Поэтому перед нашими селекционерами и агротехниками стоит почетная задача получения высококачественного сырья для чайных фабрик. Однако в борьбе за качество черного чая и технологии принадлежит далеко не последняя роль. Ведь в основном чайное производство сводится к тому, что вещества, содержащиеся в зеленом листе, подвергаются определенного рода химическим изменениям, в результате чего и возникают те ароматические и вкусовые продукты, которые придают готовому черному чаю его высокие качества.

В общих чертах чайное производство состоит в следующем: на плантациях с чайных кустов собирают так называемые флеши, молодые побеги, несущие на себе почку и три листочка. Флеши по возможности быстро в еще совершенно свежем виде доставляются на фабрики. Здесь они прежде всего подвергаются завяливанию. Для этого они раскладываются тонким слоем на холщевых гамаках в просторном, хорошо проветриваемом помещении. При обычных для наших субтропиков температуре и влажности воздуха завяливание длится около 18 час. При этом зеленый чайный лист теряет известное количество заключенной в нем воды. Лист считается в достаточной степени завяленным тогда, когда количество оставшейся в нем воды в два раза превышает количество сухих веществ.

В результате завяливания лист теряет свой тургор и перестает ломаться при сгибании и скручивании, он делается мягким и гибким. Это очень важно для следующей производственной операции — скручивание чайного листа на роллерах. Поэтому производственник обращает на указанную сторону дела особое внимание и определяет готовность листа при завяливании на основании его физического состояния, наощупь.

Завялочный цех является узким местом на чайных фабриках. Он занимает наибольшую часть помещения фабрики, а самый процесс завяливания требует сравнительно большого промежутка времени. Поэтому за последние годы как за границей, так и в особенности у нас выявилось стремление по возможности сократить срок завяливания путем повышения температуры и усиления вентиляций в специально построенных для этой цели камерах. При этом так называемом искусственном или ускоренном завяливании можно удалить из листа нужное количество влаги в течение очень короткого срока — двух-четырех часов. Однако практика такого ускоренного завяливания показала, что при этих минимальных сроках получается чай пониженного качества. Мы остановимся на этом вопросе еще в дальнейшем.

Завяленный флеш поступает в следующее отделение фабрики, где он подвергается скручиванию на особых машинах — роллерах. Эта операция производится при помощи специального «вальсирующего» движения отдельных частей роллера. При этом чайный лист не только

приобретает обычную для готового продукта форму, но и подвергается более энергичному механическому воздействию. Как мы увидим ниже, чрезвычайно существенным является происходящее при этом механическое разрушение живых клеток листа. Для большей полноты и равномерности после первого скручивания вся масса подвергается сортировке на специальных ситах (зеленая сортировка). Оставшиеся на ситах части вновь подвергаются скручиванию на роллерах и затем опять сортируются. Таким образом скручивание повторяется три, а иногда даже пять раз.

Уже во время скручивания начинается ферментация чайного листа. Лист теряет зеленую окраску, приобретает характерный медно-красный цвет и начинает издавать специфический аромат. После скручивания и сортировки лист раскладывается в плоские деревянные ящики и помещается в специальное ферментационное отделение, где он остается лежать в течение 4—6 час. при температуре 22—25° и при стопроцентной относительной влажности воздуха. Именно здесь в ферментирующейся чайной массе происходит целый ряд химических реакций, в результате которых зеленый чайный лист превращается в готовый черный чай. Именно здесь возникают те вещества, которые обусловливают собой настоистость, цвет, вкус и аромат черного чая.

После ферментации чай поступает в специальные сушильные печи, назначение которых состоит в фиксации полученного при ферментации продукта. Высушенный чай, так называемый «полуфабрикат», дальше уже подвергается только механической обработке; измельчению, сортировке и смешиванию (купажу). Эта последняя стадия не представляет какого-либо интереса с биохимической точки зрения, она имеет чисто товарное значение.

Таким образом мы видим, что основные качества черного чая возникают в результате тех химических изменений, которые происходят в зеленом листе при его фабричной обработке. Конечно, если лист содержит в себе недостаточно тех веществ, которые должны подвергнуться указанным химическим изменениям, то тут технология бессильна, она не может создать этих веществ. Но и высококачественное сырье при неправильном ведении технологического процесса даст низкосортный продукт. Задача технолога и состоит именно в том, чтобы полностью на 100% использовать все те возможности, которые дает ему сырье, для получения высококачественного черного чая.

Хотя мировая чайная промышленность уже существует в течение многих сотен лет, она отнюдь не может считаться передовой в отношении своей техники. Она строилась чисто эмпирически, усовершенствовалась от случая к случаю и не имеет под собой никаких логических, научных обоснований. Мировые авторитеты по чайному производству с полной отчетливостью констатируют, что ни в одном вопросе не сделано так мало, как в изучении того, что происходит во время изготовления

чая. Несмотря на многочисленные работы, посвященные этому вопросу, мы все еще находимся в полном неведении относительно тех биохимических процессов, в результате которых зеленый лист превращается в готовый продукт.

Благодаря такому положению вещей при изготовлении черного чая до самого последнего времени не приходилось даже говорить о полном использовании всех возможностей, заключенных в зеленом листе. Мы даже не могли судить о том, в какой мере мы не используем эти возможности, так как в чайном производстве отсутствовал объективный производственный контроль. В других отраслях пище-вкусовой промышленности мы обычно имеем строгий контроль каждого производственного агрегата, каждого отделения, цеха. Так например, в сахарном производстве химическая лаборатория с точностью до сотых процента учитывает потери, происходящие на диффузии, на станции очистки, на фильтрпрессах, на выпарке и т. д. Всякое повышение потерь или другие изменения показателей сигнализируют о неправильности работы данного отделения или агрегата, что позволяет сейчас же принять меры к устранению этих неправильностей. Только благодаря наличию такого строгого контроля сахарное производство достигло той высокой степени технического совершенства, на которой оно сейчас находится.

На чайных фабриках, как известно, химические лаборатории вообще отсутствуют. Контроль производства здесь осуществляется путем простого опробования готового чая особым специалистом, так называемым титестером, который оценивает качество продукта, его настой, вкус, аромат и т. д. Не говоря уже о том, что эта оценка является до известной степени субъективной, ее очень трудно связать с работой отдельных цехов фабрики.

Строго говоря, титестер может только установить, плох или хорош данный чай в отношении того или иного свойства, но он не может сказать, насколько получающееся качество продукта зависит от работы того или иного отделения фабрики. Следовательно титестерская оценка носит скорее потребительский, чем производственный характер. И следовательно собственно производственный контроль в чайной промышленности совершенно отсутствует.

Понятно, что такое положение вещей создает большие затруднения для проведения планомерной рационализации производства. Только тогда, когда мы можем объективно контролировать, мы можем спокойно вводить те или иные изменения или усовершенствования. Иначе рационализатор попадает в чрезвычайно трудное положение, когда он не имеет под ногами почвы и не может объективно оценить те результаты, которые получены им при том или ином изменении схемы производства или при рационализации работы того или иного агрегата фабрики. Вся рационализация таким образом в отсутствии контроля сводится только к более или менее удачному гаданию.

Только объективный производственный контроль позволит широко развернуть работу по рационализации чайного производства и даже по коренной его реконструкции. Но для этого необходимо глубокое знакомство с теми процессами, которые протекают при изготовлении черного чая. Для того чтобы установить контроль, нужно прежде всего совершенно четко представить себе, чего мы хотим от того или иного отделения или агрегата, за изменением каких свойств сырья мы будем следить при нашем контроле.

В упоминавшемся уже выше сахарном производстве дело обстоит относительно просто. Здесь мы только выделяем определенное химическое соединение, сахарозу, находящуюся уже в готовом виде в сырье — в свекловичном корне. За этим веществом и устанавливается контроль. Всякое его изменение, разложение, в процессе производства знаменует собой потери и должно быть устранено.

В чайном производстве дело обстоит сложнее. Здесь какие-то вещества чайного флеша должны подвергнуться некоторым, ближе не изученным изменениям, и только тогда мы получим продукт надлежащего качества. Ясно, что для введения в чайное производство объективного контроля должны быть прежде всего детально изучены эти изменения и установлен биохимический смысл определенных, найденных чисто эмпирически, приемов завяливания, скручивания, ферментации и т. д. Короче говоря, должна быть создана научно обоснованная теория чайного производства.

Руководимой мною группе научных работников в составе А. Курсанова, С. Манской, Н. Глазунова и М. Бокучавы было поручено разрешение некоторых практических вопросов. Уже проделанные нами в 1934 г. исследования позволили вскрыть в основном характер тех явлений, которые происходят при изготовлении черного чая. Вкратце они сводятся к следующему. Зеленый лист чайного куста представляет из себя часть живого организма. В нем, как и во всяком другом организме, непрерывной чередой совершается ряд химических превращений, в основе которых лежит действие заключенных в живой клетке ферментов. Скорости отдельных ферментативных реакций весьма строго координированы между собой. В результате этого продукты, возникающие вследствие одной реакции, не накапливаются в клетке, а сейчас же подвергаются изменению в результате следующей реакции, причем это изменение идет в совершенно определенном направлении. Таким образом получаются длинные цепи определенных химических превращений, отдельные звенья которых так хорошо «пригнаны» друг к другу, что мы обычно не находим в клетках промежуточных продуктов в сколько-нибудь заметном количестве, а наблюдаем только начало и конец цепи. При механическом разрушении клеток ферменты не погибают, но их взаимосвязь нарушается. Каждый фермент начинает действовать независимо от другого. Совершенно ясно, что в результате этого получаются иные продукты реакции, чем те, которые мы наблюдали при жизни клеток.

При скручивании чайного листа на роллерах мы механически разрушаем живую ткань, но сохраняем в активном состоянии заключенные в ней ферменты. В результате действия этих освобожденных от взаимосвязи ферментов и возникают те химические вещества, которые обусловливают настоистость, вкус, аромат и прочие свойства чая. Искусство технолога и состоит в том, чтобы путем внешних воздействий усиливать или ослаблять отдельные ферментативные реакции и этим направлять общий суммарный процесс ферментации по определенному руслу.

Из сказанного прежде всего с полной отчетливостью выступает та роль, которую играет в производстве черного чая роллерный процесс. Его задача состоит в том, чтобы нацело разрушить все клетки зеленого чайного листа. Если какой-либо участок листа останется не раздавленным в процессе скручивания, то он не будет участвовать в дальнейшей ферментации; совершающиеся в нем биохимические процессы будут итти так, как если бы мы просто сохранили его в течение определенного времени в зеленом состоянии и после высушили бы его в сушилке. Таким образом не раздавленные на роллерах части флеша по существу минуют фабричную обработку и не используются для образования веществ, придающих готовому чаю его вкус и аромат, они являются вредным балластом, понижающим качество готового черного чая.

Наши исследования показали, что фактически в производстве далеко не всегда мы имеем стопроцентное раздавливание тканей флеша на роллерах. Нами был установлен метод, позволяющий контролировать процесс скручивания в указанном направлении и таким образом выявляющий полноту использования сырья на данной стадии производства.

Особое внимание в своей работе мы обратили на процесс предшествующий роллерной обработке, на завяливание чайного листа, так как этот процесс в связи с ускоренными методами завяливания стоит сейчас в центре внимания технологов. До наших исследований существовало два противоположных взгляда на значение завяливания в чайном производстве. Одни видели в этом процессе чисто физическое явление — потерю листом воды и связанное с этой потерей изменение физических свойств флеша. Напротив, другие считали, что наряду с указанным физическим изменением протекают и некоторые химические превращения, имеющие существенное значение для дальнейшей обработки листа. Разрешение этого вопроса очень важно с точки зрения применения ускоренного завяливания. Если процесс завяливания сводится только к удалению известного количества воды из зеленого чайного листа, то этого очень легко и быстро можно достигнуть, повышая температуру и вентиляцию.

Однако наши исследования показали, что здесь дело не сводится только к простому удалению влаги. В завяливаемом листе, испытывающем водный дефицит, протекает ряд химических изменений, совершенно необходимых для того, чтобы дальнейшая ферментация листа пошла

нормальным путем. Только при учете этого обстоятельства возможно и при искусственном завяливании получить чай надлежащего качества.

В 1935 г. указанная работа по изучению чайного производства была продолжена Институтом биохимии Академии Наук уже в значительно более расширенном масштабе. Поэтому кроме перечисленных выше товарищей к ней были привлечены еще специально для этой цели приглашенные сотрудники (Дьячков, Шуберт, Баланцев, Брюшкова, Серенков, Егоров, Габуния, Шавишвили и Горюнова). Работа развернулась в двух направлениях. С одной стороны, продолжалось углубленное изучение тех процессов, которые лежат в основе чайного производства, причем в этом году особое внимание было обращено на ферментацию, ту стадию производства, при которой возникают основные качества готового черного чая. С другой стороны, на основании данных, полученных в 1934 г. были разработаны методы производственного контроля. На двух чайных фабриках (Чиквинской и Салибаурской) впервые в истории чайной промышленности были организованы химические лаборатории, которые в течение всего сезона по определенной инструкции контролировали работу фабрик. В результате этого для большого числа отдельных партий чая был получен ряд объективных показателей, характеризующих в каждом отдельном случае работу завялочного, роллерного и ферментационного цехов. Эти показатели легко могли быть сопоставлены с химической и титестерской оценкой готового продукта. Таким путем на большом производственном материале удалось проверить наши основные теоретические положения и подтвердить возможность объективного контроля в данном производстве.

Как исследования, проведенные на чайных фабриках, так и осуществленные нами в 1935 г. в Институте чайного хозяйства лабораторные работы в полном согласии вскрыли те химические процессы, которыми определяются конечные качества черного чая. В первую очередь здесь нужно остановиться на настоистости чая, свойстве, на которое обращает большое внимание как потребитель, так и титестер.

Уже давно высказывалось предположение, что цвет чайного настоя обусловлен теми темноокрашенными продуктами, которые возникают при окислении чайного таннина кислородом воздуха. В свежем неповрежденном листе таннины находятся в неокисленном состоянии. Здесь поглощаемый живыми клетками кислород воздуха направляется на окисление углеродов до углекислоты и воды. Но после разрушения живой клетки при скручивании чайного листа нормальный процесс дыхания нарушается и кислород воздуха начинает окислять таннины, причем и образуются темноокрашенные продукты чайного настоя. Поэтому полученный при помощи горячей воды экстракт из зеленого чайного листа является почти бесцветным; он не содержит пигментов чайного настоя, которые возникают только в процессе ферментации.

Однако оставался неясным и возбуждал большие разногласия воп-

рос о причинах окисления чайного таннина в процессе ферментации. Таннин был выделен из чайных листьев еще в начале настоящего века Наннингом, но лишь сравнительно недавно он подвергся глубокому химическому изучению в работах японского ученого Цужимуры. Этот автор дает для чайного таннина следующую структурную формулу.

Выделенный в химически чистом виде чайный таннин сам по себе сравнительно легко окисляется и темнеет при хранении его во влажном воздухе. Это обстоятельство заставило ряд авторов высказать предположение, что и при ферментации чая происходит просто самоокисление таннина кислородом воздуха. Однако, изучая скорость этого процесса на выделенном нами по методу Цужимуры таннине, мы убедились, что сам по себе чистый чайный таннин окисляется чрезвычайно медленно. Если бы он и в ферментирующемся листе окислялся с такой же скоростью, то для получения нужной окраски настоя пришлось бы ферментацию вести многие недели, а может быть даже и месяцы. Ясно, что при естественной ферментации скорость окисления таннина значительно повышается благодаря наличию в листе катализаторов – окислительных ферментов.

Тем не менее, если мы к раствору чайного таннина прибавим какой-либо окислительный фермент — оксидазу или пероксидазу с перекисью водорода, то окисление не пойдет скорее, чем оно шло в отсутствии ферментов. На это указывал еще Невилль. Точно так же и Фрейденберг подтверждает неспособность окислительных ферментов действовать на чайный таннин. Указанный автор считает, что этот таннин относится к группе уплотненных таннинов, на которые ферменты вообще не могут действовать.

В наших опытах полностью подтвердились наблюдения Невилля, но мы подошли к объяснению указанной бездеятельности ферментов несколько с иной стороны, чем это делает Фрейденберг. Еще в 1929 г. работами А. Опарина и А. Курсанова было показано, что многие ферменты, в том числе и пероксидаза, очень легко и полно инактивируются при прибавлении к их раствору даже ничтожно малых количеств таннина. Это инактивирование связано с переходом фермента из растворимого микрогетерогенного состояния в макрогетерогенное, когда фермент оказывается адсорбированным на возникшем вследствие действия таннина осадке. Таким образом неудача применения ферментов для ускорения окисления таннина объясняется тем, что в условиях опыта таннин выступает не только как подлежащий окислению субстрат, но и как инактиватор, быстро приводящий фермент в недеятельное состояние. Однако в той же работе Опарина и Курсанова было показано, что можно «защитить» фермент от инактивирующего действия таннина, если добавить

к раствору фермента продукты белкового распада (пептон). При этом фермент остается в растворе (в микрогетерогенном состоянии) и вследствие этого полностью сохраняет свою активность.

С. Манской был проделан целый ряд опытов по окислению таннина пероксидазой в присутствии пептона. Окислению подвергался как обычный таннин, так и таннин, выделенный в чистом виде из чайных листьев. В качестве пероксидазы употреблялись как препараты этого фермента, полученные из хрена, так и препараты, выделенные из листьев чая, где находится очень большое количество весьма активного фермента. Во всех случаях в присутствии пептона (или растворимого белка — альбумина) пероксидаза вызывала быстро идущее окисление таннина и образование характерных для чайного настоя пигментов. В нижеприводимых таблицах сведены некоторые из полученных Манской данных.

Таблица 1

Окисление обычного таннина чайной пероксидазой в присутствии H_2O_2 и различных количеств пептона

№ по пор.	Пептон 2%				Пептон 3%			
	Таннин, мг	Пептон, мг	Цветность по стандарту	% окисленного таннина	Таннин, мг	Пептон, мг	Цветность по стандарту	% окисленного таннина
1	3.3	40.2	0.23	100	3.3	50.7	0.23	100
2	5.9	35.0	0.34	81	5.9	45.9	0.42	100
3	8.4	28.2	0.39	68	8.4	31.2	0.52	90
4	9.8	15.6	0.47	68	10.0	30.0	0.55	80
5	11.1	13.1	0.53	67	11.1	30.0	0.59	75
6	13.2	11.3	0.55	45	13.2	27.5	0,60	50

Таблица 2

Окисление чайного таннина чайной пероксидазой и H_2O_2 в присутствии альбумина

На 50 см³ общего раствора	Цветность в отношении к стандарту			
% раствора таннина	без альбумина	1 см³ альбумина	2 см³ альбумина	3 см³ альбумина
1 см³	следы	0.11 0.18	0.25 0.30	0.41 0.42
2 см³	0	следы »	0.40 0.53	0.63 0.61
3 см³	0	следы »	0.20 —	0.36 0.30

Из табл. 1 и 2 видно, что чем меньше мы берем пептона в отношении к таннину, тем меньший процент этого последнего окисляется пероксидазой. Если мы берем очень небольшое количество таннина, то достаточно бывает и небольшого количества пептона, чтобы весь таннин подвергся окислению. Однако в этом случае цветность раствора будет не высока, так как в нем мало содержалось той субстанции (таннина), которая при окислении дает пигмент. Одновременно увеличивая концентрацию таннина и пептона, мы можем в значительной степени поднять цветность раствора. Но одно увеличение концентрации таннина, как это показывает табл. 2, не только не вызывает увеличения цветности, но может даже вызвать ее понижение, так как пептона не будет уже хватать для защиты фермента от инактивирующего действия таннина. Таким образом в конечном итоге цветность зависит не только от содержания таннина, но и от присутствия в растворе соответствующего количества продуктов белкового распада.

Эти наблюдения полностью объясняют те явления, с которыми мы сталкиваемся при производстве черного чая. При скручивании чайного листа пероксидаза приходит в соприкосновение с таннином. Вследствие этого немедленно должно было бы произойти инактивирование указанного фермента. При правильном ведении технологического процесса этого не происходит в силу того, что подвергающийся скручиванию завяленный лист содержит в себе значительное количество продуктов белкового распада («растворимого азота»). Исследования А. Курсанова показали, что при завяливании чайного листа заключенные в нем белки распадаются в результате действия протеолитических ферментов. В этом и состоит основной смысл той химической подготовки, которой лист подвергается при завяливании. Если завяливание ведется так, что указанный протеолитический процесс не успел в должной мере пройти и завяленный лист не накопил в себе достаточного количества «растворимого азота», то окислительный процесс при ферментации не пойдет надлежащим образом, и чай получится мало настоистым.

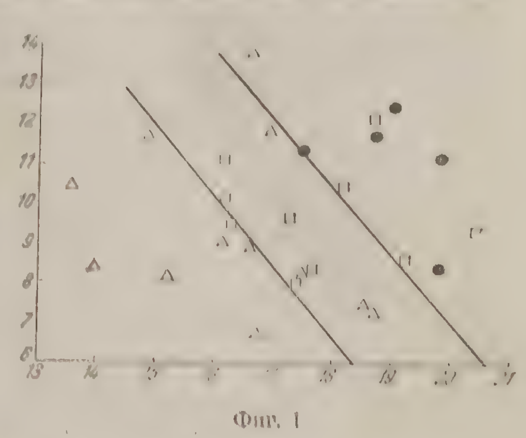
Эти выводы полностью подтверждаются теми данными, которые мы получили в наших контрольных фабричных лабораториях[1]. На приводимой фиг. 1 для примера даны результаты анализов первой фракции чаев на Салибаурской фабрике. Аналогичные результаты получены и по второй фракции, а также и на Чаквинской фабрике.

На вертикальной оси диаграммы отложено количество растворимого таннина, содержащееся в той или иной производственной пробе чая; на горизонтали — количество «растворимого азота[2], определенное после

[1] На Салибаурской фабрике в контрольной лаборатории работа была проведена тт. Габуния и Серенковым, на Чаквинской фабрике тт. Шавишвили и Егоровым. Опробование чаев велось титестерами тт. Селивановским и Новожиловым.

[2] На данной диаграмме «растворимый азот» приведен после некоторого пересчета, который однако нисколько не изменяет соотношение величин.

завяливании чайного листа данной пробы. Каждая фигура, нанесенная на диаграмму обозначает собой определенную исследованную нами партию чая, подвергшуюся переработке на Салибаурской фабрике. При этом кружками обозначены те чаи, которые получили высокую по настою титестерскую оценку, прямоугольниками — чаи среднего качества и, наконец, треугольниками — малонастоистые чаи. Мы видим, что высокосортные чаи располагаются в правом верхнем углу диаграммы. Это значит, что только в том случае, когда лист содержит в себе достаточное количество танина и, что особенно важно, когда он накопил при завяливании большое количество «растворимого азота» мы получаем хороший настой. Напротив, в левой части диаграммы располагаются исключительно треугольники — чаи малонастоистые.



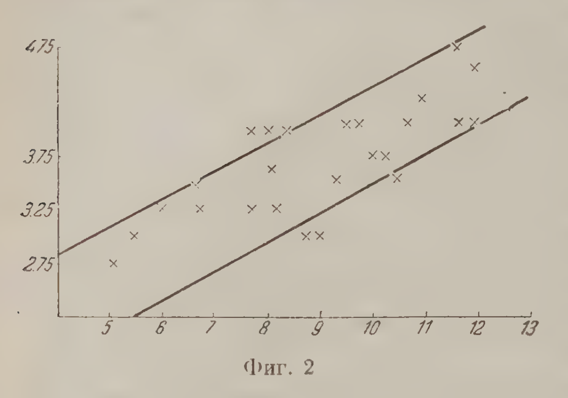
Фиг. 1

Здесь встречаются образцы и с весьма высоким содержанием танина, но они не образуют хорошего настоя в силу того, что в них мало содержится «растворимого азота». Благодаря этому танин окислился лишь в небольшом своем проценте, и настоистость получилась слабая. Особенно интересна проба, обозначенная треугольником в самой верхней точке диаграммы. Эта проба чайного листа содержала сравнительно очень высокое количество танина. Таким образом с точки зрения обычной характеристики сырья по танину этот лист имел все предпосылки дать после обработки чай особенно хорошего качества. Но то ли вследствие своих природных свойств, то ли вследствие неправильно проведенного процесса завяливания он накопил в себе сравнительно мало «растворимого азота». Между тем повышенное содержание танина, как это нами уже указывалось, требует и повышенного содержания «растворимого азота». В данном случае этого последнего оказалось недостаточно для того, чтобы защитить фермент от инактивирующего действия избыточного количества танина и поэтому в конечном результате чай получился особенно низкого качества. Конечно, возможны и обратные случаи, когда несмотря на значительное количество «растворимого азота» чай получается низконастоистый просто потому, что в нем было очень мало танина, того вещества, которое при окислении дает настой. Такие случаи мы видим в нижней части диаграммы.

Если принять во внимание, что при определенном содержании «растворимого азота» окисляется определенный процент танина, можно по

данным, полученным после завяливания, до некоторой степени рассчитать, какова должна быть настоистость чая, полученного из данной партии завяленного листа. Фиг. 2 дает результаты сопоставления этих данных с титестерской оценкой для второй фракции чаев, полученных в 1935 г. на Салибаурской фабрике. На горизонтали отложены цифры нашей химической оценки, на вертикали — титестерской оценки по настою.

Конечно не может быть полного совпадения между предварительной оценкой по завяливанию и окончательной титестерской оценкой. Ведь после завяливания чайный лист подвергается еще скручиванию, ферментации и сушке. В зависимости от того насколько правильно проводятся эти операции качество чая может повышаться или понижаться. Но все же мы видим, что на нашей диаграмме обозначенные крестиками чаи располагаются в пределах сравнительно узкой полосы. Правое нижнее и левое верхнее поля диаграммы остаются совершенно пустыми. Это значит, что не было такого случая, когда бы чайный лист, показавший хорошую оценку по завяливанию (с точки зрения таннина и «растворимого азота»), дал бы мало настоистый (по титестерской оценке) чай, или, наоборот, лист с плохими показателями по завяливанию дал бы чай высоконастоистый.



Фиг. 2

Из сказанного видно, какое громадное значение для качества чая имеет процесс завяливания. Он предопределяет собой успешность всех последующих операций по переработке чайного листа. Но нужно иметь в виду, что это значение определяется не количеством потерянной при завяливании воды, а теми изменениями белкового комплекса, которые при этом в листе происходят. Скорость отдачи листом воды (скорость испарения) в основном определяется температурой, влажностью окружающего воздуха и силой вентиляции, при помощи которой этот воздух протягивается над поверхностью листа. Скорость протеолиза определяется гораздо более сложными обстоятельствами. Здесь играет роль не только водный дефицит, но и в первую очередь природа самого листа, условия, имевшие место при хранении листа до завяливания, условия аэрации и т. д. В силу этого при разных схемах естественного и искусственного завяливания мы не в праве ожидать какого-либо совпадения между потерей влаги и физическим изменением листа, с одной стороны, и химической подготовленностью листа и ферментации, с дру-

гой. Лист может за данный промежуток времени при данных условиях потерять нужное количество воды, но из этого еще не следует, что в нем успели пройти необходимые нам протеолитические процессы и что он накопил вследствие этого нужное количество «растворимого азота».

Таблица 3

Данные по завяливанию высоконастоистых чаев

Азот	% сухих веществ	Время		Температура
		до завялив.	продолж. завял.	
16.86	33.5	4 ч.	8 ч. 30 м.	31—33
16.67	32.5	4 ч.	5 ч.	30—33
15.95	39.4	2 ч. 30 м.	9 ч.	30—33
15.93	36.4	4 ч. 30 м.	8 ч. 30 м.	29—32
16.83	34.5	6 ч.	8 ч.	22—32
16.26	39.0	1 ч. 20 м.	10 ч. 20 м.	30—31
15.5	34.0	2 ч.	17 ч. 50 м.	25—24
16.79	36.7	2 ч.	18 ч.	25—24

Таблица 4

Данные по завяливанию чаев с низким показателем по настою

Азот	% сухих веществ	Время		Температура
		до завялив.	продолж. завял.	
13.29	38.4	4 ч.	9 ч. 50 м.	30—32
13.5	33.0	2 ч. 40 м.	8 ч. 15 м.	31
13.5	36.2	3 ч.	11 ч. 10 м.	—
12.56	37.2	24 ч.	9 ч.	—
12.56	35.3	5 ч. 20 м.	7 ч.	36—34
12.23	38.38	5 ч.	6 ч. 25 м.	34—36
13.5	33.0	2 ч.	35 ч.	20—21
13.1	37.0	—	37 ч.	20—22
13.5	30.0	—	25 ч.	21—22

Ниже мы приводим таблицы в достаточной степени ярко характеризующие это положение. В табл. 3 приведены данные завяливания, имевшие место в том случае, когда были получены сравнительно высоконастоистые чаи. Напротив, табл. 4 содержит в себе те же данные для низкосортных чаев.

В приведенных таблицах мы имеем и случаи кратковременного искусственного завяливания, и естественное 18-часовое завяливание, и еще более длительное завяливание в условиях повышенной влажности окружающего воздуха. Во второй графе таблиц приведены количества сухих веществ в завяленных листьях. Лист, завяленный до нормы, должен содержать 33.5% сухих веществ. Если их содержится меньше, то лист недовялен, если больше, то значит влаги удалено слишком много, лист перевялен. В таблицах приведены и те и другие случаи, но мы не можем установить какого-либо постоянного соотношения между степенью завяленности листа и количеством накопленного в нем «растворимого азота»[1].

Однако производственник свою оценку готовности листа в процессе завяливания дает исключительно на основании физических признаков, в буквальном смысле слова на ощупь. Понятно, что таким путем можно до известной степени установить только количество потерянной листом влаги, но ни в коем случае не те химические изменения, которые и составляют основной смысл процесса завяливания. Поэтому-то нередко, в особенности при применении искусственного завяливания, в производстве получаются глубоко различные, весьма пестрые результаты. Располагая азотным показателем, мы очень легко в лабораторных условиях и на фабриках можем установить такую рациональную схему завяливания, при которой в листе накапливалось бы максимальное количество «растворимого азота», и следовательно использовались бы на этой стадии все те возможности, которые дает нам зеленый чайный лист.

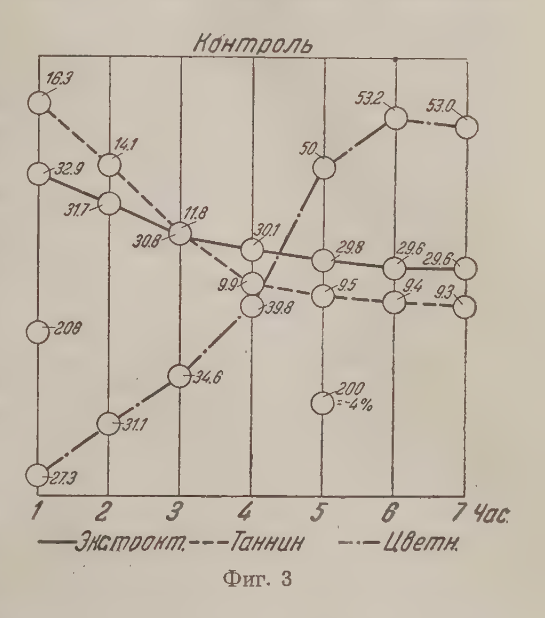
Чтобы покончить с вопросом о ферментативном окислении таннина мы должны здесь кратко остановиться еще на одном обстоятельстве. В приведенных выше лабораторных опытах С. Манской окисление таннина осуществлялось при воздействии на него пероксидазы и перекиси водорода. Последняя служила здесь окислителем, так как фермент — пероксидаза — не может ускорять окисления, непосредственно идущего за счет кислорода воздуха. Но в технологическом процессе окисление таннинов происходит именно за счет этого газа. Это кажущееся противоречие было нами разъяснено еще в 1934 г. Дело в том, что в процессе скручивания чайного листа происходит избыточное поглощение кислорода воздуха, который идет на образование высокомолекулярных органических перекисей. Эти перекиси и служат источником кислорода при окислении таннина чайной пероксидазой; они заменяют собой обычно

[1] В графе «азот» даны количества «растворимого азота» в мг на 1 г сухого вещества листьев.

применяемую нами в лабораторных условиях перекись водорода. Таким образом, хотя в конечном итоге в производственных условиях ферментативный процесс окисления таннина идет за счет атмосферного кислорода, тем не менее именно пероксидаза является тем основным ферментом, который катализирует этот процесс.

От описанного окисления таннина зависит не только цветность чайного настоя, но и его вкус. Если таннин чайного листа в процессе обработки не подвергся окислению, то чай получается чрезвычайно терпким и горьким. Но полнота чайного вкуса, как говорят титестеры, его «тело» зависит еще кроме того и от общего содержания растворимого таннина (как окисленного, так и не окисленного) и от общего количества экстрактивных веществ. Если их мало, то чай получается «пустой» на вкус.

Н. Дьячков и М. Бокучава исследовали изменения указанных показателей в процессе ферментации. Результаты этих исследований можно видеть на фиг. 3.

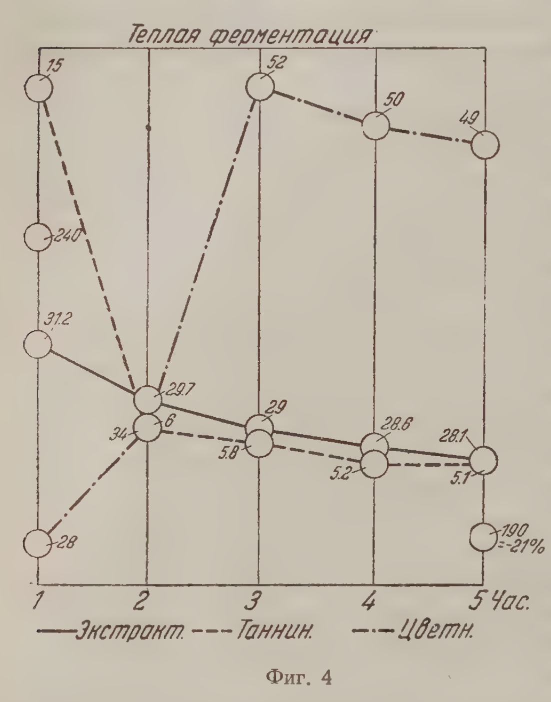


Фиг. 3

Подымающаяся вверх кривая характеризует собой повышение цветности чайного настоя, которое происходит в результате постепенного окисления таннинов в процессе ферментации. При температуре 22—25° C кривая достигает своего максимума примерно на 6-й час ферментации, после чего начинается некоторое снижение цветности чайного настоя. Параллельно с этим нарастанием цветности в процессе ферментации идет довольно быстрое падение экстрактивности чайного настоя и количества растворимых таннинов. Это падение на диаграмме изображено двумя другими кривыми. В начале ферментации оно идет особенно интенсивно и лишь к концу несколько ослабевает. Таким образом, чем, дольше мы ферментируем лист, тем меньшее количество остается в нем растворимых таннинов и экстрактивных веществ. Чай получается хотя и в достаточной степени настоистым, но «пустым» на вкус. Наоборот, чай, полученный при кратковременной ферментации, содержит большое количество растворимого таннина и экстрактивных веществ, но в нем окислительные процессы не успели еще пройти в надлежащей мере, и поэтому он получается малонастоистым, «бледным» и вместе с тем

неприятного горького вкуса. Возникает как бы некоторое противоречие между цветом настоя и полнотой вкуса чая.

В практике чайных фабрик нередко применяется повышение температуры ферментационного отделения. М. Бокучава исследовала ход вышеописанных процессов при температуре 33—35°. Результаты этих исследований представлены на фиг. 4.



Фиг. 4

Как мы видим, при этих условиях окисление таннина и нарастание цветности значительно ускоряется и достигает своего максимума уже на 3-м часу ферментации. Но еще в большей мере возрастает скорость тех процессов, в результате которых понижается содержание таннина и экстрактивных веществ. Те «ножницы», которые мы имели при обычной ферментации еще в большей мере расходятся при повышенной температуре. Это зависить от того, что окисление таннинов и связанное с этим нарастание цветности, с одной стороны, и падение экстрактивности и количества растворимых таннинов, с другой стороны, представляют из себя два совершенно независимых процесса с различными температурными коэффициентами. Повышая температуру, мы увеличиваем скорость и того и другого процесса, но далеко не в равной мере. Скорость падения экстрактивности нарастает с повышением температуры гораздо интенсивнее, чем это имеет место в отношении окислительного процесса и увеличения цветности. Поэтому, для того чтобы сблизить концы «ножниц», нужно не повышать, а, наоборот, понижать температуру. Исходя из этих соображений, М. Бокучавой была изучена ферментация при низких (12—8°) температурах. Полученные результаты показаны на фиг. 5.

Как и нужно было ожидать, при этих условиях ферментация несколько затягивается и может считаться законченной только после 9 час., но зато здесь и в конце ферментации чай содержит значительное количество растворимых таннинов и экстрактивных веществ. Нижеследующая табл. 5 характеризует собою чаи, полученные из од-

ного и того же сырья при различных температурных режимах ферментации.

Таблица 5

Химический и дегустационный анализ чая

№ оп.	Влажность, %	Темп., °С	Часы	Экстр. вещ., %	Таннин	Цветв.	Настой	Аром.	Вкус	Разв.
	100	31	3	30	10.9	34	Слабый	1	1 —	1
1	100	22	5	32	13.05	35	Слабый	1 —	1	1
	100	8	8	35	15.0	40	Средн. кр.	1	1 +	1
	100	35	2	30.8	5.47	26.8	Оч. слаб.	1 —	2	2
	100	25	4	32.3	9.11	28.2	Средн.	2	3	5
2	100	15—17	7	33.7	10.78	31.6	Средн. кр.	1 —	2	2
	100	8	9	34.1	11.06	39.8	Средн. кр.	1	1 —	1
	100	35	2.5	27.6	5.01	20.2	Слабый	2 —	2	3
	99.71	25	4.5	30.1	8.07	22.2	Средн.	2	1 —	1
3	99.83	15 17	7	33.2	8.84	41.2	Средн.	1	1 +	1
	99.7	8	8.5	33.8	10.59	55.6	Средн. кр.	1 +	1	1
4	100	35	2	28.78	6.38	28.8	Слабый	1 —	2	4
	99.74	25	4	31.3	9.52	35.2	Средн.	1 —	1	4

Из этой таблицы мы видим, что как по химической, так и по титестерской[1] оценке холодная ферментация неизменно дает улучшение качества чая по всем показателям[2].

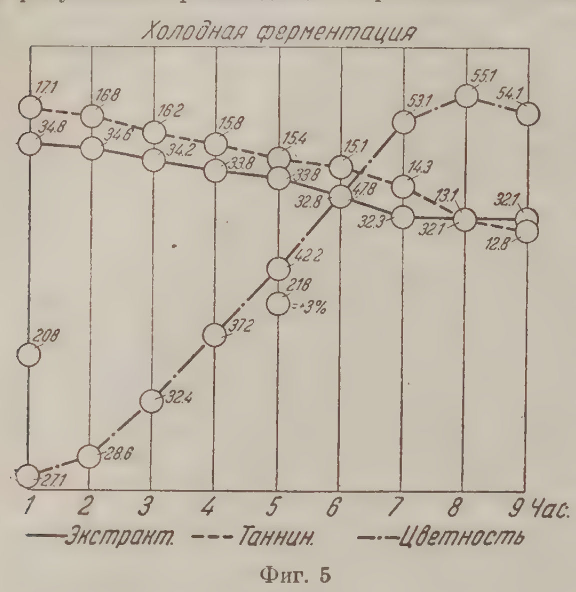
Правда, применение низких температур несколько затягивает процесс ферментации, но всякий, бывавший на чайных фабриках, хорошо знает, что ферментационные отделения всегда обладают значительным запасом емкости. Они никогда не бывают в достаточной степени загруженными. Поэтому удлинение ферментации до 9 час. ни в какой мере не может отозваться на производительности наших фабрик. А ценою этого удлинения, как мы видели, мы покупаем значительное повышение качества готового чая по всем показателям. Поэтому мы считаем

[1] Титестерское опробование как в этом, так и во всех последующих случаях осуществлялось С. И. Васильевым.

[2] Приведенные в табл. 5 титестерские знаки нужно понимать следующим образом: (1 +) — наиболее высокосортный чай, (1) — очень хороший чай, (1 —) — несколько хуже, (2) — еще хуже, (3) — еще более низкосортный чай и т. д.

вполне целесообразным внедрение холодной ферментации в нашу фабричную практику.

В заключение нужно остановиться на третьем чрезвычайно важном качественном показателе—араматичности чая. Титестер различает две категории чайного аромата: «розановый» аромат и запах некоторой «прижаристости» чая. Этот последний запах чай приобретает уже в сушилке, он не является специфическим чайным ароматом и создается в результате происходящего при высокой температуре взаимодействия между углеводами и азотистыми веществами. Этот запах можно всегда получить сравнительно легко, но он должен присутствовать в чае лишь в очень ограниченной степени и если «прижаристость» чувствуется слишком сильно, титестер бракует чай. Напротив, «розановый» запах является специфическим чайным ароматом и усиление его крайне желательно для повышения качества готового продукта.



Фиг. 5

Имеется весьма обширная, хотя и несколько устаревшая литература по вопросу о чайном аромате. Однако, несмотря на многочисленные, попытки, до настоящего времени не только не удавалось установить химическую природу носителя чайного аромата, но даже выработать те объективные показатели, на основании которых можно было бы характеризовать чай с точки зрения его ароматичности. Г. Манн с этой целью применял обычную отгонку с водяным паром. При этом летучие вещества чая, в том числе эфирные масла, переходят в погон. Но так как этих масел в чае сравнительно мало, и они довольно хорошо растворимы в воде, погон остается всегда прозрачным, и эфирные масла не могут быть собраны и измерены, как это обычно делается, в виде маслянистого слоя. Поэтому Манн ограничивался определениями общей окисляемости дестиллата, для чего подвергал пахучий водный погон окислению раствором перманганата. Такой метод вряд ли может считаться точным, так как понятно, что в погон может переходить ряд органических веществ, титруемых перманганатом, но не имеющих никакого отношения к чайному аромату. А. Курсанов подверг дестиллат,

получаемый при перегонке чая с водяным паром, более детальному исследованию. Наряду с общей окисляемостью (А.) он определил в нем кислотное число (К. Ч.), число омыления (Ч. О.) и эфирное число (Э. Ч.). Кроме того он установил количество особо летучих веществ, которые при перегонке не задерживаются в водном погоне. Их можно уловить концентрированной серной кислотой и затем определить путем сжигания с хромовым ангидридом (по выделяющейся углекислоте).

Таблица 6

Сравнительная оценка чайного аромата химическим путем и посредством титестерского опробования

№ и дата опыта	№ образца	Химическ. оценка летучих веществ					Титестерское опробование	
		А.	Лет. фрак.	Ч. О.	К. Ч.	Э. Ч.	Аром. оц.	Примечание
№ 1 1/VII	1	2 045	117	1 161	826	670	1	Более ароматен
	2	1 608	32	867	769	196	2	Аромат слабый
№ 2 2/VII	1	2 526	142	1 492	801	694	1	Аромат наиболее сильный, но проще, чем № 3
	2	2 882	49	398	693	205	3	Слабый аромат, далеко позади № 1 и 3
	3	2 862	130	1 362	502	860	2	Аромат несколько слабее № 1, но полнее
№ 3 5/VII	1	1 775	81	871	717	154	3	Слабый аромат, далеко сзади № 2 и 3
	2	1 430	116	959	574	385	1	Наиболее полный и приятный аромат
	3	2 275	135	1 046	722	324	2	Близкий по аромату к № 2

В табл. 6 приведены результаты трех сравнительных опробований различных партий чая. В первом опробовании сравнивалось два образца, во втором и третьем фигурировало по три образца чая. Параллельно, но независимо одна от другой, производилась химическая и органолептическая оценки аромата. Только после получения результатов они сравнивались между собой. Данные титестером цифры характеризуют только то место (первое, второе или третье, на котором стоит испытываемый образец в данной партии по своему аромату. Следовательно эти цифры могут быть использованы только в пределах данной партии.

Как видно из приведенной табл. 6, общее количество титруемых перманганатом веществ (величина А.) отнюдь не может служить надежным показателем для оценки чайного аромата, так как в одних случаях (опыт 1-й) эта оценка находится в прямой зависимости от силы аромата, в других (опыт 2-й) в обратной и, наконец, в ряде случаев зависимости совсем не наблюдалось (опыт 3-й). Значительно

точнее может быть дана оценка чайного аромата на основании констант дестиллата. Сравнивая эти константы с титестерской оценкой мы приходим к заключению, что чайный аромат в основном корреспондирует с эфирным числом дестиллата (Э. Ч.) и с количеством летучих фракций. При этом Э. Ч. соответствует по преимуществу полноте и приятности букета, а летучие фракции — силе чайного аромата.

Пользуясь этими объективными показателями, можно было проследить за динамикой чайного аромата по отдельным стадиям производства. Результаты этих исследований, проведенных под руководством А. Курсанова, сведены в прилагаемой табл. 7.

Таблица 7

Динамика летучих веществ в чайных листьях во время приготовления черного чая

Дата	Стадия переработки	А. (в см³) №/50 $KMnO_4$	Летуч. фракц. (в мг) CO_2	Ч. О. (в мг) (КОН)	К. Ч. (в мг) (КОН)	Э. Ч. (в мг) (КОН)
1 опыт 13 VII 1935 г.	Свежий лист	1 589	26.0	375.6	91.6	284.0
	Конец завялив.	2 222	60.8	464.3	174.0	290.3
	После 2-ч. скруч.	1 630	45.8	759.0	445.0	314.0
	Конец фермент.	1 953	79.2	821.0	456.0	365.0
	Полуфабрикат	1 450	41.2	637.0	560.0	77.0
	Измен. при сушке	— 503	— 38.0	— 184.0	+ 104	— 288

Внимательное рассмотрение полученных данных показывает, что с момента завяливания и до конца ферментации в чайном материале происходит накопление летучих кислот (Ч. О.), образование которых особенно усиливается с момента скручивания. Часть летучих кислот остается свободной (К. Ч.), другая же часть входит в состав сложных эфиров (Э. Ч). Одновременно с этим увеличивается количество летучей фракции. Процесс накопления летучих кислот и синтез сложных эфиров приходит к своему естественному концу примерно через 5 час. после начала скручивания, при температуре 25°. Этот момент следует рассматривать как стадию максимального накопления чайного аромата. Вслед за этим начинается потеря пахучих веществ, частью вследствие их улетучивания, частью же благодаря обратному разложению эфиров до свободных кислот. Но особенно резко аромат падает при сушке чая, когда ароматоносители улетают вместе с водяным паром (см. графу «полуфабрикат»). При существующей конструкции сушильных печей мы почти $^3/_4$ накопленного при ферментации аромата в буквальном смысле слова пускаем на ветер и лишь $^1/_4$ оставляем потребителю. Для

сохранения аромата и получения высококачественных чаев необходима коренная реконструкция сушильных отделений наших чайных фабрик.

Подводя итоги всему сказанному мы видим, что в результате работ Института биохимии Академии Наук СССР удалось разобраться в тех сложных процессах, от которых зависит качество готового чая его настоистость, вкус и аромат. Удалось установить контроль, позволяющий наблюдать за правильным течением технологического процесса, и, наконец, удалось создать предпосылки для рационального управления этим процессом в условиях наших чайных фабрик.

В заключение должен с большим удовлетворением отметить, что нам удалось выполнить изложенную выше работу только благодаря тому исключительному вниманию, которое мы встретили как со стороны Института чайного хозяйства, так и со стороны администрации и рабочего коллектива тех фабрик, на которых производились наши опыты.

Институт биохимии.
Академия Наук СССР.

A. I. OPARIN. THE BIOCHEMICAL PRINCIPLES OF TEA INDUSTRY

SUMMARY

1. Our tea industry is, in the main, a product of Soviet times. Its development is remarkably vigorous and its aim is to satisfy the demand for tea in tne USSR. The task facing the tea industry does not consist, however, exclusively in increasing its output, but also in raising the quality of the product.

2. The quality of black tea does not depend on the original properties of the green leaf only, but also, to a considerable extent, on the changes occurring in the leaf during the process of tea manufacture. This process may in the main be divided into the following four stages: withering of the grean tea leaf, twisting the leaf in rolling machines, fermentation of the tea and, finally, its drying in «tea driers».

3. Although the world tea industry is many centuries old, it cannot, nevertheless, be considered a technically advanced industry. Up to quite recent times its technological processes were purely empirical. D-r Mann, the well known specialist, writes in this connection: «We are still ignorant of what occurs during the preparation of black tea, and what are the causes of the changes involved». There was no control of the manufacturing process..

4. My investigations and those of my collaborators have shown that the chief properties of black tea, its colouring properties, taste, aroma etc. are the result of a series of fermentative processes occurring in tea manufacture after crushing the cells of the green leaf during its being twisted between the rollers. During this process the protoplasm is dest-

royed, but the activity of the ferments does not cease, it proceeds in a different direction from that in the living cell.

5. Withering of the tea leaf is a most important process. Formerly its significance was considered to consist exclusively in the preparation of the leaf for being twisted between the rollers (loss of turgor). Our investigation have shown the extreme importance of the chemical changes occurring in the leaf during withering. Protein decomposition products, serving as protective substances for tea leaf ferments, accumulate during this process. In the absence of these substances, the ferments, on the desctruction of the cell, should be immediately inactivated by tea tannin, and no fermentation would be possible. Indeed, if the leaf does not accumulate a sufficient quantity of soluble nitrogen, fermentation is weak, and the quality of the tea is low.

6. Our investigations have shown that the task of the rolling machines consists not only in giving the tea leaf the shape required, but chiefly in completely destroying all the living cells of the leaf. To attain this, the rolling process must be properly organized. Otherwise far from all the raw material will be involved in the subsequent fermentative process and, consequently, will not undergo the necessary chemical changes.

7. The excessive absorption of oxygen by the material commences during the twisting of the leaf. This leads to the formation of highly molecular organic peroxides. During subsequent fermentation proceeding at the expense of these peroxides, the peroxidase ferment oxidizes the tannin of the tea. The formation of the pigments of the finished product depends upon this process. These oxidation processes play a decisive part in producting tea aroma as well.

8. During tea fermentation, owing to the above mentioned oxidation of the tannins, the colouring properties of tea gradually increase. Independently of this, under the action of other processes, there occurs a gradual fall in extractability. Therefore, too prolonged a fermentation results in tea of deep colour but of no flavour. As the increase in colouring properties and the fall in extractibility correspond to different temperature coefficients, it is possible so to control the fermentation process by regulating the temperature that the ultimate product will be of an all round high quality.

We have succeded in obtaining such a product by means of the so-called «cold fermentation» process.

9. We have established objective indices of tea aroma. On the basis of these indices, we have studied the dynamics of aroma formation. It has been shown that tea aroma is mainly a product of the first hours of fermentation, when the synthesis of esters is taking place. Towards the end of fermentation, the inverse process of the decomposition of these esters set in. But the loss of aroma is particularly marked during

the drying process, when the aroma-bearing substances evaporated together with water vapour. A root and branch reconstruction of the drying departments of tea factories is necessary for the preservation of the aroma and the production of high quality tea.

10. On the basis of a detailed knowledge of the biological processes occurring during the manufacture of black tea, we organized a control of tea manufacture, which enabled us to estimate objectively the work of the different departments of the tea factory. It is now possible on the basis of such a control, to set about a rationalization of the industry and to considerably rise the quality of the finished product.

ИЗВЕСТИЯ АКАДЕМИИ НАУК СССР. 1936
BULLETIN DE L'ACADÉMIE DES SCIENCES DE L'URSS
Classe des sciences mathématiques et naturelles
Отделение математических и естественных наук

А. И. СМИРНОВ

БИОХИМИЯ ТАБАЧНОГО ПРОИЗВОДСТВА [1]

(*Представлено академиком* **А. Н. Бахом**)

На основе изучения химических и ферментативных процессов, происходящих при получении табака из исходного сырья, выяснена биохимическая сущность основных технологических процессов табачного производства — «сушки» и ферментации табака. Это изучение позволило провести рационализацию технологического процесса и осуществлять его вне зависимости от времени года в условиях искусственного климата. Выключение при ферментации участия микроорганизмов подтверждает положение, что ферментация табака зависит от автолитических процессов: с этим согласуются и наблюдаемые химические изменения.

Если не касаться весьма сложных физиолого-биохимических процессов, происходящих в период роста и созревания табака, и сосредоточить внимание лишь на переработке убранного с поля урожая, то биохимическая сущность табачного производства будет определяться двумя основными этапами обработки табака — сушкой и ферментацией. В зависимости от различий в выполнении этих главнейших производственных звеньев могут иметь место качественные и количественные вариации биохимических изменений состава табака и его свойств, определяющих его потребительские и технологические достоинства. При этом следует отметить, что особенности сушки зависят от степени технической спелости табачного листа, а особенности ферментации — от характера производственной сушки.

Производственный процесс, носящий название сушки, состоит из двух последовательных фаз, резко различных по своей природе. В первую фазу сушки биохимические изменения протекают в живых голодающих листьях, медленно теряющих влагу. На языке практиков эта фаза называется «томлением» табака. Непременным условием для ее выполнения является живое состояние листьев. Всякие воздействия, убивающие табачные листья (мороз, быстрое обезвоживание, высокая температура — выше 50° C, скопляющаяся углекислота дыхания), прекращают

[1] Доложено на заседании Биологической группы 28 января 1936 г.

специфический ход биохимических изменений, свойственных процессу голодания. Это наносит непоправимый ущерб производству, так как только в живых голодающих листьях табака развиваются биохимические изменения, необходимые для качества конечного продукта обработки и неповторяющиеся в дальнейшем.

Вторая фаза сушки наступает с потерей живого состояния листьев в результате истощения запасных веществ при голодании, с потерей воды до величины предельного водного дефицита. Предельный водный дефицит для листьев табака в большинстве случаев равняется 30—35% от полного насыщения листьев водой. Поскольку после этого в окончательно завядших листьях табака остается на некоторое время (различное в зависимости от скорости обезвоживания) еще вполне достаточное для проявлений действия ферментов содержание воды, биохимические изменения в эту фазу сушки приобретают характер автолиза.

Наиболее существенные для конечного качества продукта биохимические изменения в табаке при сушке происходят в первую фазу (при томлении). Они состоят из протеолиза белков, из расщепления крахмала с образованием сахаров, из трансформации сахаров и органических кислот, сопровождающейся дыхательным газообменом, и при этом первоначальная зеленая окраска листьев изменяется в желтую, вследствие разрушения хлорофилла. Производственное значение этих превращений заключается в том, что они ведут к удалению или к значительному понижению содержания веществ, отрицательно влияющих на качество конечного продукта. Химический анализ и практическая оценка различных товарных сортов табака констатируют, что избыток белков и наличие крахмала и хлорофилла сопутствуют низкому качеству табака. Сахара и органические кислоты также имеют известное значение, как сопровождающие определенные качества продукта обработки.

Отрицательное значение избытка белков в табаке обусловливается не только понижением вкуса табака, поскольку продукты сгорания белков (как и крахмала) имеют неприятный запах, но также и ухудшением физических свойств табака. Белки, как гидрофильные коллоиды, обусловливают повышенную влагоемкость сухого вещества и связанные с ней следующие отрицательные качества: слипание табачного волокна и запрессовывание в машинах при фабричной переработке, плохое тление табака при курении и неполнота сгорания, дающая вкусовые ощущения пониженного качества. Избыток белков в подсушенном табаке может создавать повышенную ломкость, увеличивая отход в производстве на распыление.

Зависимость протеолиза белков, а также распада крахмала и хлорофилла в живых клетках табачных листьев от внешних условий, объясняет приемы томления табака в практике и указывает пути рационализации этого процесса. Для успешного протеолиза белков в живых клетках растений, как это показывают работы последнего времени (Мотес), необходимо иметь помимо надлежащей температуры понижен-

ное давление кислорода в межклетниках листьев, поскольку активаторами протеолитических ферментов служат восстановленные вещества с сульфгидрильными группами (R = SH), легко окисляющиеся с потерей своего активирующего действия. Понижение содержания кислорода в межклетниках табачных листьев при томлении создается, с одной стороны, завяданием, вызывающим ослабление газообмена вследствие закрывания устьиц, с другой стороны, отсутствием освещения, следовательно исключением фотосинтеза и связанного с ним внутриклеточного образования кислорода. Высокая активность протеолитических ферментов табачных листьев во время сушки наблюдалась как в наших опытах, так и в опытах Викери, выражаясь в расщеплении белков до конечных продуктов без сколько-нибудь заметного скопления пептонов.

Накопление конечных продуктов протеолиза белков стимулирует активность амилазы, в результате чего происходит резкое расщепление крахмала при наличии в клетках еще значительного содержания сахаров. Глубокий распад белков на фоне исключения фотосинтеза влечет также усиленное разрушение хлорофилла. Расход белков при томлении табака достигает 30—50% от исходного их содержания, а крахмал и хлорофилл при хорошем выполнении процесса томления исчезают практически нацело.

В виду тесной связи этих процессов в указанной последовательности, изменение зеленой окраски табака на желтую вследствие распада хлорофилла является вполне надежным практическим показателем окончания первой фазы сушки, преследующей доведение распада крахмала и белков до возможного предела. Наряду с этими изменениями происходит значительное накопление аминокислот и оснований, энергичный синтез кислотных амидов, небольшой распад никотина и трансформация сахаров и органических кислот.

В первые сроки томления происходит некоторое накопление сахаров и органических кислот. В дальнейшем их содержание понижается, особенно сахаров, расходуемых в процессе дыхания. Эти изменения безазотистых соединений и небелковых форм азота носят на себе также отпечаток состояния насыщенности листьев влагой. При полном насыщении листьев эти процессы, как и протеолиз, выражены слабее, чем при небольшом водном дефиците листьев без сильного завядания.

Пределы колебаний в изменениях некоторых компонентов табака при томлении можно видеть из приведенных здесь данных (табл. 1).

Во вторую половину сушки, когда табак переходит из состояния голодания в состояние автолиза, изменения в его составе зависят от скорости происходящего обезвоживания. Основным биохимическим процессом практического значения в этой фазе является образование пигментов в результате окисления хромогенов при участии оксидаз.

Хромогены табачных листьев представлены ароматическими спиртами находящимися в глюкозидной связи. Медленное обезвоживание табака после окончания томления благоприятно для последовательного действия

Таблица 1

Пределы наблюдавшихся процентных изменений в составе табака во время томления (при «сушке») и за время ферментации

Состав табака	Томление (в процентах)		Ферментация (в процентах)	
Сухое вещество	— 12	— 30	— 2	— 5
Белковый азот	— 24	— 50	— 0.26	— 9.5
Азот амидный	+ 58	+ 2 419	— 28	— 81
» моноаминокислотный	+ 114	+ 300	— 2	— 75
» оснований без никотина	+ 93	+ 395	—	+ 71
» аммиака	+ 87	+ 280	+ 8	+ 149
» никотина	+ 0.5	— 6	— 3	— 23 (—43) сигары
Крахмал	— 94	— 98	— 11	— 73
Сахара	+ 30	— 62	— 0.4	— 70
Хлорофилл	— 90	— 96	—	—
Органические кислоты				
Щавелевая	+ 8	— 63	— 7	— 26
Яблочная	— 90	+ 125	— 40	— 53
Лимонная	— 44	— 340	— 62	— 85
Уксусная	+ 18	+ 71	—	—
Муравьиная	+ 50	+ 300	+ 17	+ 159
Метиловый спирт (пектинов.)	—	— 16	— 2	— 56 (—90) сигары

глюкозидаз и фенолоксидаз. Поэтому для получения светлых табаков требуется возможно быстрое обезвоживание табака после томления, исключающее гидролиз глюкозидов и окисление хромогенов.

Наряду с этим при обезвоживании табака во вторую половину сушки совершаются повидимому довольно существенные изменения в белковом комплексе, выражающиеся в уменьшении отношения между моно- и диаминокислотами, величина которого, по нашим наблюдениям, снижалась с 2.4 до 1.6. В связи с имеющимися литературными указаниями на зависимость гидрофильности белков от соотношения в них моно- и диаминокислот следует полагать, что эти изменения в белковом комплексе являются одной из причин понижения гидрофильности сухого вещества табака за время сушки.

Количественные изменения остального химического состава табака в эту фазу сушки значительно меньше, чем при томлении. При быстром обезвоживании табака после томления, для получения светлой окраски в конечном продукте, изменения в составе табака практически отсутствуют, и эта фаза сушки сводится к фиксации предшествующих изменений.

В результате всего комплекса биохимических процессов за время сушки вырабатывается ряд свойств будущего конечного продукта, но основные качества табака, его специфические вкус и аромат еще

не приобретаются при сушке. В отношении этих свойств сушка является лишь подготовительным этапом для основного процесса ферментации.

Длительной практикой производства выработались эмпирические навыки управления описанными биохимическими процессами совершенно без знания их характера и зависимости от внешних уловий. Эти первобытные кустарные способы сушки сохранились и в современном табачном производстве. Для проведения томления табачные листья либо складывают в кучи, которые время от времени повертывают для проветривания, либо развешивают на шнурках в тесной навеске, а иногда листья не снимают со стеблей и табак томят целыми растениями. Этими приемами достигается исключение быстрого завядания и преждевременного отмирания табака, а также создается благоприятное для ускорения процессов повышение температуры в массе листьев от их дыхания.

При обезвоживании табака во вторую фазу сушки листья выносят из сараев на открытый воздух или быстро засушивают в обогреваемых сушилках. Результаты этих приемов в значительной степени находятся в зависимости от условий погоды и поэтому не всегда бывают удачны.

Знакомство с основными биохимическими процессами при сушке и с зависимостью их от внешних условий позволяет производству рационально организовать управление процессом сушки путем создания необходимых климатических условий искусственно в сушилках. Схемы климатических режимов, определяющих внутренние изменения, внешнюю окраску и товарные свойства конечного продукта, можно представить в виде фиг. 1, где влажность воздуха изображена черной полосой, а температура воздуха — полосой с крапом, поднимающейся с ходом процесса при снижении влажности.

Графики фиг. 1 составлены на основании ряда лабораторных исследований и производственных опытов, выполнявшихся у нас в СССР и за границей. Для табачного производства нашего Союза в борьбе за качество продукции организация рационального выполнения процесса сушки является одной из первоочередных задач[1].

Прошедший нормальную сушку табак еще не годен ни для потребителя, ни для фабричной переработки и, легко подвергаясь порче в плотной упаковке, не выдерживает транспорта и хранения. Только ферментация сообщает табаку привычные для потребителя вкусовые и ароматические качества, повышает его горючесть, создает необходимые для фабричного производства технологические свойства и придает стойкость против поражения микроорганизмами при хранении и транспорте

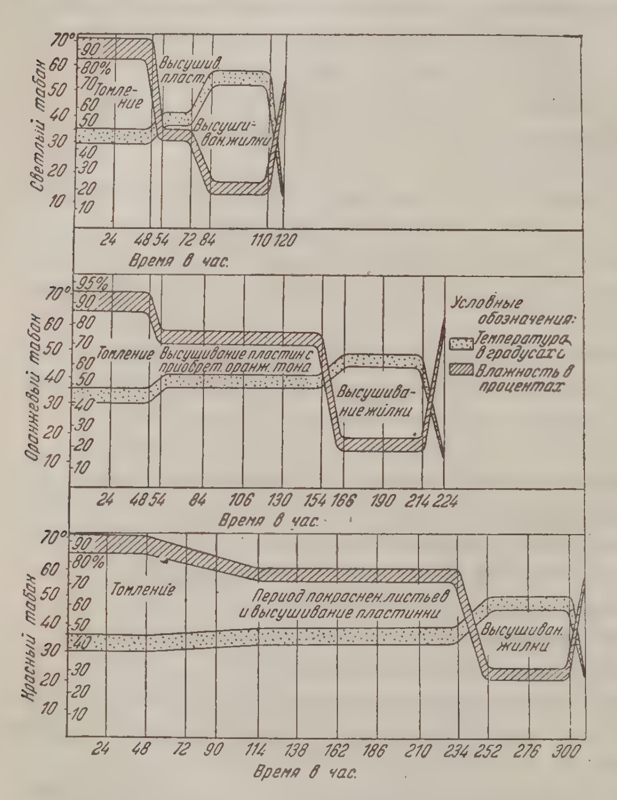
---

[1] Полный разбор биохимии процессов сушки и ферментации, а также относящейся сюда литературы можно найти в монографии А. И. Смирнова «Физиолого-биохимические основы сырьевой обработки табака», Краснодар, 1933 г.

в спрессованном состоянии. При этом надо отметить, что как характер течения ферментации, так и ее результаты находятся в тесной зависимости от особенностей предшествовавшей обработки.

Объединяемые под общим названием ферментации приемы воздействия на табак с целью развития в нем свойств готового продукта могут быть весьма многообразны.

В одних случаях эти воздействия сводятся к созданию условий, при которых в табаке развиваются процессы, сопровождающиеся его разогреванием и влагоотделением. Благодаря постоянно происходящему при нормальной ферментации самоувлажнению табака этот процесс обработки получил в американской практике второе название sweating.



Фиг. 1. Схема режима температуры и влажности воздуха для получения различных окрасок табака восточного типа при «климатической сушке»

В зависимости от типа табака ферментация проводится либо при влажности его 18—23% с небольшим повышением температуры (ферментация желтых табаков папиросного типа), либо при значительно больших влажностях от 25 до 45% и при значительно большем повышении температуры (ферментация темных табаков сигарного типа). Помимо этих двух основных типов ферментации, для многих табаков применяются искусственное прогревание их при температуре от 50 до 90° С обычно при низком содержании влажности в окружающем воздухе и без развития ими собственного тепла — так называемая ускоренная или форсированная ферментация. Наконец, в последние годы в Америке начал применяться способ обработки многих табаков особыми растворами (1), что сокращает срок получения готового продукта, снижает трату сухого вещества, почти исключает самосогревание табака и ослабляет обычное потемнение его окраски.

При большой пестроте выполнения практических приемов обработки табака, называемой ферментацией, естественно не может быть единого общепринятого представления о сущности этого процесса.

В суждении о природе ферментации, без чего не может быть решен вопрос рационального управления производственным процессом, приходится основываться как на внешних проявлениях процесса, так и на внутренних изменениях состава табака и на зависимости тех и других от внешних условий. Если не принимать во внимание различных ускоренных или форсированных ферментаций, то общим внешним выражением нормально развивающегося процесса является самосогревание и самоувлажнение табака, сопровождающееся газообменом и развитием своеобразного ферментационного запаха, вначале довольно тяжелого, а затем достаточно приятного, напоминающего запах свежеиспеченного ржаного хлеба. Специфический аромат готового табака начинает появляться лишь к концу ферментации. При ферментации темных табаков сигарного типа и махорки почти постоянно и часто очень резко ощущается запах аммиака. Ферментация желтых табаков папиросного типа обычно не сопровождается выделением аммиака или других летучих азотистых соединений. Появление запаха аммиака служит безусловным показателем порчи желтого табака от развития микробиологических процессов. Некоторые специалисты считают развитие аммиачного запаха показателем неблагополучного течения процесса и для ферментации сигарных табаков (2), в то время как, по мнению других, выделение газообразного аммиака сигарным табаком при ферментации, безусловно обязанное микробиологической деятельности, является нормальным проявлением процесса (3).

Это один из пунктов, обусловливающих разногласие в представлениях о природе ферментации табака.

Вторым основанием для противоречий является настолько различная, как упоминалось, влажность табаков, при которой проходит их ферментация, что в одних случаях участие микроорганизмов в процессе становится безусловно сомнительным, в то время как в других развитие на табаке микрофлоры при ферментации не только представляется возможным, но и подтверждается бактериальным анализом. Во втором случае возникает весьма трудный для решения вопрос, является ли развитие микрофлоры обязательным для ферментации табака или представляет случайное наслоение. Вскрываемые химическим анализом изменения в составе табака при ферментации значительно меньшие для большинства компонентов, чем при сушке, даже по процентным величинам, не говоря уже об абсолютных (табл. 1). Так, для крахмала не только абсолютная величина распада ничтожна, но и процентно этот распад значительно меньше, чем при сушке. Еще в большей мере это относится к белкам. Все обнаруживаемые изменения характеризуются процессами распада, в то время как при сушке имеется ряд синтезов: сахарозы,

кислотных амидов, органических кислот и повидимому некоторых органических оснований.

В группе ароматических веществ есть основание предполагать при ферментации синтез сложных эфиров, поскольку содержание их значительно возрастает. Это, надо полагать, наряду с другими изменениями в группе смол и эфирных масел, в частности в связи с насыщением в них некоторых двойных связей кислородом, является объяснением образования аромата табака при ферментации. Распад веществ как углеводной группы, так и азотистых соединений, обеспечивается наличием в табаке, поступающем на ферментацию, достаточно обширного комплекса ферментов. Изучение ферментов табака было начато еще О. Левом в конце прошлого столетия, но особенно продвинулось в последнее десятилетие, благодаря систематическим работам в этой области Института табачной промышленности в нашем Союзе и лабораторий Нейберга и Фодера за границей. Из этих работ теперь известно, что в процессе ряда обработок, которым подвергается табак после уборки его с поля и до ферментации, значительная часть ферментов табака не только сохраняет активность, но даже повышает ее. Так, при томлении табака мы имели возможность наблюдать возрастание активности амилазы почти на 200%, сахаразы до 80%, глюкозидазы свыше 450%, двойное увеличение активности дезамидазы и полное сохранение при сушке высокой активности фосфотазы; пептаза при томлении слабо понижает свою активность, сохраняя ее в дальнейшем при ферментации почти без изменений. В группе десмолитических ферментов мы наблюдаем возрастание при сушке активности пероксидазы на 300% и фенолоксидазы свыше 30%. По данным Фодера и Рейфенберга (4) за время сушки нарастает активность специфической оксидазы табака, окисляющей никотин. В Германии работами Института биохимии под руководством Нейберга установлено наличие как в желтых папиросных табаках, так особенно в темных сигарных, весьма активной пектазы (5), а также гликолазы (6). Относительно карбоксилазы, имеющиеся у отдельных исследователей данные противоречивы. По наблюдениям Фодера и Рейфенберга, а также и по нашим, у желтых табаков имеется карбоксилаза, причем согласно первым представляется даже возможным распознавать по этому ферменту степень сферментированности табака. В противоречии с этими наблюдениями находятся работы лаборатории Нейберга, в которых не обнаружено присутствия в табаке карбоксилазы. Наконец, из группы десмолитических ферментов в табаке обнаруживается каталаза, впервые открытая Левом именно в табаке, и дегидраза, — действие которой проявляется в восстановлении метиленовой синьки (4,7) и селенистокислого натра (8).

Наличие такого обширного и по многим своим компонентам весьма активного комплекса ферментов может с успехом обеспечить обнаруживаемые при ферментации процессы расщепления и процессы газо-

обмена, выражающегося в поглощении кислорода и в выделении углекислоты.

Констатируемое химическим анализом при ферментации накопление сложных эфиров в составе ароматической группы табака может быть связано с деятельностью эстераз, обнаруженных в табаке еще в 1913 г. Костхузеном и Шеддом (7) по омылению этилбутирата и оливкового масла, что в позднейшем (1929 г.) подтвердилось опытами Андреадиса при изучении действия табачного экстракта на изменение поверхностного натяжения раствора моно-бутирина. Условия для синтетической деятельности эстераз при сушке мало благоприятны повидимому, в связи со значительным количеством воды в табаке во время томления и процессами окисления, беспрепятственно протекающими при высушивании и исключающими накопление спиртов, как необходимых компонентов при синтезе эфиров. Значительно меньшая влажность табака при ферментации и умеренное снабжение его кислородом в тюковой или штабельной массе более обеспечивают развитие синтетической работы эстераз.

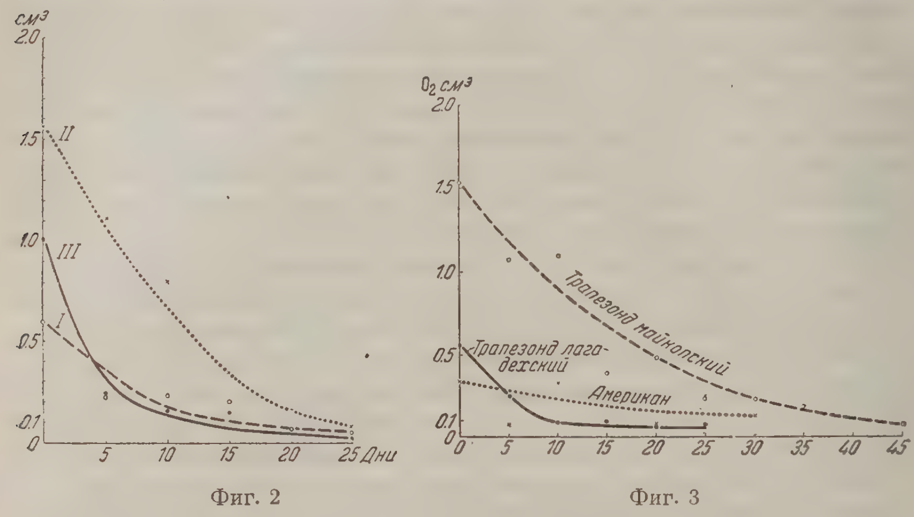
Опыты длительного анализа (2 месяца) табачных листьев во влажном воздухе и во влажном азоте при полном насыщении пространства парами летучих антисептиков (хлороформ, толуол) подтверждают положение, что изменения в химическом составе табака при ферментации независимы от микробиологической деятельности, являясь результатом проявления ферментной активности самого табака. Помимо аналогичности химических изменений в составе табака при автолизе и при практической ферментации, происходит одинаковый газообмен, выражающийся в поглощении табаком кислорода и в выделении им углекислоты. При этом учет количества углекислоты и динамика ее выделения во времени не оставляет сомнений в полном исключении микробиологических процессов применявшимися антисептиками. Результаты наших опытов находятся в полном согласии с одновременно опубликованными исследованиями в том же направлении Фодера и Рейфенберга, показавшими, что применение плазматических ядов (сулема, вуцин) и фильтрация водной вытяжки табака через бактериальные фильтры не исключают обычного для практической ферментации табака газообмена. При помещении табака, увлажненного 2% раствором сулемы, в дюаровские сосуды происходит, как и при ферментации, повышение температуры. При этом микробиологический анализ табака указывает, что обработка сулемой полностью уничтожала микроорганизмы, бывшие ранее на табаке.

Далее, как нашими наблюдениями, так и упомянутой работой Фодера и Рейфенберга была установлена связь термогенезиса с окислением за счет поглощаемого табаком кислорода из воздуха и с деятельностью фенолоксидаз.

Замена воздуха в дюаровских сосудах водородом (Фодер и Рейфенберг) или азотом (наши опыты) или просто плотное закрывание сосудов исключают разогревание табака. Термогенезис значительно усиливался

в наших опытах при увлажнении табака растворами фенолов вместо дестиллированной воды.

Наряду с этим в опытах Фодера и Рейфенберга также выяснилась роль кислорода как водородного акцептора в явлении разогревания табака. Табак, смоченный метиленовой синькой (n/100), давал разогревание в анаэробных условиях, но заметно меньшее (около 2°), чем при доступе к табаку воздуха (до 6°), что вполне объясняется меньшей теплотой гидратации метиленовой синьки, чем кислорода. Таким образом



Фиг. 2 Фиг. 3

как разогревание табака, так и его самоувлажнение, являющиеся характерными внешними проявлениями ферментации, могут осуществляться в результате деятельности имеющихся в табаке дегидраз и оксидаз. Явление самоувлажнения табака при ферментации связано помимо этого еще с ослаблением его водоудерживающей способности в результате старения коллоидов и химического их изменения.

Исходя из такого представления, согласно с давно высказанным О. Левом мнением, что ферментация в основе является окислительным процессом энзиматического характера, мы провели изучение потенциальной способности табака к поглощению кислорода на протяжении всей ферментации через пятидневные промежутки времени. Эта способность табака, которую мы будем называть кислородным показателем, определялась нами путем часового взбалтывания 15 см³ водной суспензии 1 г табака в манометрических сосудах, позволяющих одновременно учитывать как поглощаемый кислород, так и выделяемую углекислоту. Некоторые из результатов этих определений показаны на приводимых здесь графиках (фиг. 2 и 3). При весьма различной исходной величине кислородного показателя и разной скорости его падения не только у разных табаков, но и у одного табака (что может быть связано

с неодинаковым содержанием в табаке донаторов водорода, дегидраз и оксидаз) к концу ферментации кислородный показатель (графики фиг. 2 и 3) опускается до величины, не превышающей 0.07 см³. Величина кислородного показателя может служить объективным мерилом степени сферментированности желтых табаков и в настоящее время рекомендована для технического контроля на производстве.

Другим аналитическим признаком закончившейся ферментации желтых табаков намечается углекислота, выделяемая суспензией табака, но не все ее количество, которое очень колеблется как до, так и после ферментации, а соотношение между анаэробной и аэробной частью ее, как это видно из приводимых в табл. 2 данных.

Переходя к условиям осуществления и регулирования биохимических процессов при практической ферментации, мы провели ряд опытов как в лабораторной, так и в производственной обстановке, которыми был констатирован прежде всего факт отсутствия развития на табаке микроорганизмов при влажности окружающего его воздуха не выше 80%. В дальнейшем эти опыты были повторены с теми же результатами в Нидерландской Индии ван-Дилленом и Поповым в Болгарии. Это находилось в полном соответствии с обнаруженной ранее (1924 г.) Г. Вальтером зависимостью роста микроорганизмов от давления водяных паров над поверхностью субстрата. Изучая влажность нормально ферментирующих желтых табаков, можно убедиться, что давление водяных паров у поверхности их не превосходит предела, исключающего развитие микроорганизмов. Переход влажности за этот предел неизбежно сопровождается плесневением табака и понижением качества продукции.

Изучением влияния влажности воздуха на ферментацию желтых табаков было установлено также, что оптимальной величиной влажности

Таблица 2

Образование CO_2 (см³) водной взвесью 1 г табака за 1 час при 20°C

Сорт табака	Аэробные условия	Анаэробные условия
«Трапезонд» Майкопский, не ферментированный	0.728 (100%)	0.554 (76%)
«Трапезонд» Сочинский, не ферментированный	0.893 (100%)	0.675 (76%)
«Трапезонд» Абинский, не ферментированный	0.415 (100%)	0.319 (77%)
Он же, ферментированный	0.606 (100%)	0.572 (94%)
«Самсун» Мингрельский, ферментированный	0.864 (100%)	0.864 (100%)

воздуха для развития в табаке ферментативных процессов является 70—75%. Этим еще раз были подтверждены выводы, вытекавшие из опытов с антисептиками, что ферментация желтых табаков по своей природной сущности представляет автолитический процесс.

Установление оптимума второго внешнего условия для успешного развития ферментации табака, именно температуры, представляет большую сложность. При решении этого вопроса приходится руководствоваться как теоретическими представлениями о зависимости действия ферментов от температуры, так и установившейся практикой.

Исходя из положения, что ферментация табака представляет в основе энзиматический процесс, сопровождаемый несомненно рядом спонтанных химических реакций, мы неизбежно должны придти к заключению, что повышение температуры будет влиять и на скорость протекания ферментации и на качество конечного продукта. Поскольку известно, что температурные коэфициенты отдельных ферментативных и спонтанных химических реакций не только различны, но и не одинаково изменчивы с температурой, нельзя ожидать одного и того же комплекса изменений при ферментации в различных интервалах температуры. А так как свойства табака как вкусовые, так и технологические, находятся в тесной связи с составом, то различные температуры ферментации должны иметь свое отражение на качестве.

Насколько велики могут быть различия в этом отношении для различных видов табака, пока остается невыясненным. В связи с этим пока нет оснований изменять, с целью повышения качества продукции, температурные пределы ферментации, установившиеся длительной практикой по отдельным видам табака, на которых воспитан вкус потребителя.

Рассматривая влияние температуры на скорость биохимических процессов при ферментации приходится основываться на положении, что при повышении температуры наряду с ускорением взаимодействия ферментов с субстратами происходит и ускоренное резрушение самих ферментов. Таким образом для тех случаев, в которых количество ферментов сравнительно с субстратами велико, повышение температуры может благоприятно отразиться на ускорении биохимических процессов. При обратном соотношении ферментов и субстратов может быть понятная задержка в окончании процесса. Тормозящее действие повышения температуры на ферментацию отмечается в последнее время Джонсоном (3). По его наблюдениям выдерживание увлажненного табака в термостатных условиях при 45—55° С в течение 20 дней не сопровождалось изменениями, свойственными настоящей ферментации, или они были очень слабыми. При значительном повышении температуры искусственно или от самосогревания табака может иметь место лишь кажущееся ускорение ферментации, так как табак начинает быстро утрачивать свою способность поглощать из воздуха кислород и разогре-

ваться, но при этом не доходит до конца изменения, необходимые для получения готового продукта. Это следует уже из того, что к моменту утраты табаком способности поглощать кислород и разогреваться, им выделяется меньше углекислоты при ферментации с более высокой температурой.

На основе выясненной зависимости развития биохимических изменений табака при ферментации, и физиологических процессов при сушке от состояния температуры и влажности окружающего воздуха открылись широкие перспективы для управления процессами табачного производства в его основных фазах — при сушке и ферментации.

Наша союзная промышленность в настоящее время уже освоила и совершенствует новую технику ферментации желтых табаков в искусственно создаваемом климате ферментационных заводов, отказавшись окончательно от кустарных приемов прошлого, не имевших под собой научной базы. Новая рациональная техника, основанная на познании биохимической сущности производственного процесса уже дала нашей промышленности огромную экономию, сократив время, необходимое для получения готового продукта, и исключив массовую порчу табаков, нередко происходившую при старых кустарных приемах ферментации от развития на табаке микроорганизмов.

Не меньшая эффективность будет получена табачной промышленностью и от использования в производстве результатов научного изучения сушки. Этот процесс, ведущийся и до настоящего времени, еще в значительной мере в случайных условиях, создаваемых погодой, должен быть поставлен нашей табачной промышленностью в условия строгого кондиционирования воздуха сушильных помещений. При этом каждый этап процесса получит возможность оптимального развития, что особенно важно для поздних сортов табака в высокогорных и северных районах табаководства. Метеорологические условия этих районов в позднее время являются неблагоприятными для сушки, и высококачественные по своей природе последние сборы табака попадают благодаря этому в низкие сорта. Сушка табака в искусственно создаваемом климате позволит не только повысить качество получаемого продукта, но также обеспечит стандартность его и сократит время производства в 3—4 раза[1].

Для освоения производством результатов физико-биохимического изучения сушки требуется в настоящее время работа теплотехников по проектированию экономически приемлемых климатических сушилок и подготовка кадров, обеспечивающих выполнение процесса соответственно его природной сущности.

Институт биохимии.
Академия Наук СССР.

---

[1] Исчерпывающие сведения в этом направлении даны в монографии А. Н. Смирнова «Физиолого-биохимические основы сырьевой обработки табака», Краснодар, 1933, а также в статье того же автора «Климатическая сушка табаков», в Трудах Краснодарского с.-х. института за 1936 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Heber, Tobacco, 1931 (August—December); Anderson P., Report of the Conn. Exp. Station Windsor, Conn., March, 1927.
2. Capus Leulliot et Foex, La Tobac, 11, 368—369, 1929.
3. Johnson V., Journ. of gric. Res., 49, № 2, 137, 160, 1934.
4. Foder u. Reifenberg H. S., ZS., 162, 1—40, 1926—1927.
5. Neuberg u. Kobel, Bioch. ZS., 179, 459, 1926; 190, 232, 1927; Neuberg u. Ottenstein, Bioch. ZS., 197, 491, 1928; Andreadis, Bioch. ZS., 211, 378, 1929.
6. Kobel u. Scheuer, Bioch. ZS., 216, 1929.
7. Costhuizen a. Shedd, Amer. Chem. Soc., 35, 1289, 1913.
8. Смирнов, Табаковедение, 111, 234, 1933.

A. I. SMIRNOV. THE BIOCHEMISTRY OF TOBACCO MANFACTURE

SUMMARY

1. The basic biochemical processes in the manufacture of tabacco are the «drying» and the fermentation of tobacco.

2. The «drying» of tobacco is a two-phase process, the first of which consists of a complex of phenomena that are characteristic for a starved metabolism against a background of the gradual loss of moisture by live tobacco leaves. The lowering of the moisture content beyond the limits necessary for the life of the leaves changes the process of starving into the second phase of drying —into the process of autolysis.

3. The biochemical characteristics of the first phase of drying are: the proteolysis of proteins, the hydrolysis of starch, the expenditure of sugars, the transformation of organic acids and the breaking down of chlorophyll—alterations that have a profound influence on the quality of the product.

4. The development of biochemical processes during the first phase of drying, in dependence on external conditions, lies at the basis of the measures to be taken in manufacture and points the way for a rationalization of this phase of drying.

5. The oxidation of chromogenes into pigments, whose formation depends on the rate of the loss of water by tobacco in the second phase of drying is the biochemical process, which controls the quality of the product.

6. Control over the developments of biochemical processes during the drying of tobacco has been worked out empirically through prolonged practice, and has been conserved in its primitive form (laying the tobacco in piles, change of density in the hanging of the tobacco in sheds, taking the tobacco out of the sheds into the open air and back again and, in certain cases, the artificial heating of the place of drying). Recognition of the dependence of the biochemical processes of the drying of tobacco on external conditions (temperature and humidity of the air)

makes it possible for the tobacco industry rationally to organize its control over the process of drying, through climatizing the drying shed according to definite schemes, corresponding to qualities desired in the final product.

7. The multiplicity of the methods of bringing about the fermentation of tobacco of various types and the incompleteness of our knowledge of the changes taking place in the composition of the tobacco, are responsible for the absence of a generally accepted conception of the nature of this process.

8. The practical purpose of tobacco fermentation consists in imparting to it the flavour to which the consumer is accustomed, the technological properties necessary in its manufacture, and keeping qualities.

9. The changes in the composition of tobacco during fermentation revealed by chemical analysis and the external manifestations of the process (heating, moistening, respiration) are all due to the complex of ferments contained within the tobacco itself.

10. The elimination of the possible participation of microorganisms in the process of fermentation (antiseptics, low humidity) confirms the viewpoint that changes in the composition of tobacco during fermentation are due to autolytic processes.

11. The dependence of the rate and nature of biochemical transformations in tobacco during fermentation on temperature and humidity of the air indicates the methods to be used in rationalized manufacture.

ИЗВЕСТИЯ АКАДЕМИИ НАУК СССР. 1936
BULLETIN DE L'ACADÉMIE DES SCIENCES DE L'URSS

Classe des sciences mathématiques et naturelles

Отделение математических и естественных наук

РЕЗОЛЮЦИЯ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ГРУППЫ АКАДЕМИИ НАУК СССР ПО ПРОБЛЕМЕ «ФЕРМЕНТЫ И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ В ПРОМЫШЛЕННОСТИ»

(Заседания 27—28 января 1936 г.)

1) Современное состояние учения о ферментах показывает, что они определяют собой скорость и общее направление биохимических процессов, составляющих основу важнейших жизненных явлений. Поэтому изучение ферментов имеет исключительное значение для разрешения капитальных биологических проблем.

Указанное биологическое значение ферментов обусловило собой многочисленные исследования в этой области. Но за последние десятилетия большинство исследований было направлено главным образом на химическое и физико-химическое изучение ферментов, как таковых, и оставляло в тени их биологическую роль. Преимущественно обращалось внимание на деструктивную деятельность ферментов и, несмотря на многочисленные попытки, мало сделано для выяснения их синтезирующего действия. С этой точки зрения биологическая группа отмечает интерес и ценность сообщенных в докладах А. Н. Баха, А. Л. Курсанова и Д. М. Михлина результатов, полученных при изучении обратимости действия ферментов в живой клетке. Выявление значения гидратации тканевых коллодидов на положение равновесия, обнаружение роли адсорбционных явлений для проявления синтезирующего действия ферментов проливает новый свет на важную, но еще далеко недостаточно изученную проблему обратимости энзиматического катализа. Развитие работы в этом направлении обещает дать ценные в общебиологическом отношении результаты и продолжение этих исследований является целесообразным и необходимым.

Равным образом по практическим и теоретическим соображениям желательно развитие работ по энзиматическим синтезам in vitro.

Природа, механизм и условия течения химических процессов, служащих источником энергии для клетки, являются проблемой первостепенной теоретической важности для всех разделов биохимии, изу-

чение этой проблемы, ведущее к выполнению химических основ явлений жизнедеятельности, представляет собой одну из актуальнейших задач современного биохимического исследования. Наравне с ведущим теоретическим значением эта проблема имеет и исключительную практическую ценность, поскольку прототип такого рода процессов — спиртовое брожение (наряду с другими разновидностями брожения) лежит в основе многочисленных, чрезвычайно важных производств, и детальное проникновение в химиам брожения открывает широкие перспективы для овладения и укрепления этими процессами. Поэтому, отмечая интерес и большую значимость сообщения В. А. Энгельгардт об этих исследованиях, биологическая группа полагает правильным и необходимым дальнейшее развитие и расширение работ по этой линии.

2) Доклады А. И. Опарина, А. И. Островского и А. И. Смирнова показали, что именно действие ферментов в различных производственных смесях (тесто, ферментирующий табак, чай и пр.) определяет собой течение тех химических процессов, которые протекают в исходном сырье, составляют суть всей технологической обработки и ведут к получению готовых продуктов с их ценными питательными свойствами, вкусом, ароматом и пр.

Очевидно, что без глубокого понижения ферментативных явлений мы не можем действительно рационально управлять технологическими процессами и гарантированно получать продукты высокого качества.

Между тем представляется несомненным, что именно в области понимания действия ферментов и тех сложных химических процессов, которые катализируются ими в пищевом сырье, не достигнут еще тот уровень, который соответствовал бы высокой машинной технике пищевой индустрии Советского Союза.

Технологический процесс обработки пищевого сырья построен на чисто эмпирической базе, и огромные возможности, имеющиеся для повышения качества получаемого продукта, ускорения технологического процесса и т. д., остаются неиспользованными.

Научно-исследовательская работа, ведущаяся в различных научно-исследовательских институтах пищевой промышленности, дала целый ряд ценных результатов, но и здесь остается еще отнюдь невыполненным, а иногда даже не начатым делом изучение действия ферментов и химизма катализируемых ими процессов.

С этой точки зрения следует признать правильным и необходимым форсирование изучения ферментов и их действия в различных производственных смесях. Именно в этой плоскости возможна и необходима реальная помощь со стороны биохимических научно-исследовательских учреждений стахановскому движению в пищевой индустрии.

Институты Академии Наук, располагающие кадрами высококвалифицированных ученых, могут содействовать развитию в указанном выше направлении научно-исследовательской работы, которая должна проводится ими в тесном контакте с кафедрами ВУЗов, научно-исследова-

тельскими институтами, а также отраслевыми институтами промышленности, фабричными и заводскими лабораториями.

3) Особое значение приобретает проблема объективного научно-обоснованного, рационально поставленного контроля производства. В ряде отраслей промышленности вообще отсутствует какой-либо производственный контроль, и он заменен здесь дегустационной оценкой, основанной на органолептике и носящей потребительский характер. Но и в тех пищевых производствах, где этот контроль имеется, он установлен чисто эмпирически без достаточных научных оснований, и поэтому он далеко не в полной мере правильно ориентирует производство в оценке работы того или иного цеха или агрегата. Только на основе детального изучения производственных процессов, в частности ферментативных реакций, протекающих в производственных смесях, возможно построение такого рационального контроля, который сможет поднять технологию наших производств на должную высоту.

4) Практика многих заграничных производств показала, что ферментные препараты в ряде случаев могут быть широко использованы для ускорения и рационализации технологического процесса. В наших условиях такое применение ферментных препаратов задерживается отсутствием их производства и необходимостью покупки их патентных препаратов за границей. Необходимо организовать производство ферментных препаратов для нужд ряда отраслей пищевой и легкой индустрии.

5) Биологическая группа констатирует, что в результате проведенных работ значительно углублено и расширено наше понимание биохимии чайного производства, установлена возможность объективного контроля на чайной фабрике, в частности разработана объективная оценка завяливания по азотному показателю, позволяющая установить правильный режим в завялочных камерах в естественных условиях. Доказана возможность улучшения качества чая путем понижения температуры ферментации и реконструкции сушильных печей.

На основе проведенных работ в настоящее время чайной промышленностью могут быть с успехом использованы разработанные объективные методы фабричного контроля и рационализированы отдельные стадии процесса производства, а именно: проведена реконструкция сушильных печей в целях сохранения аромата чая и введена в практику «холодная» ферментация при температурах $+8-9^\circ$ в целях повышения качества готового продукта.

По биохимии чайного производства необходима дальнейшая работа в направлении:

а) углубленного изучения азотистых веществ, возникающих при завяливании;

б) изучения химизма и условий образования эфирных масел, обусловливающих аромат чая;

в) дальнейшая разработка экспрессных методов объективного контроля.

Считать целесообразным проведение указанной работы как по внедрению полученных результатов в производство, так и по дальнейшей разработке биохимии чайного производства при ближайшем участии и руководстве Института биохимии Академии Наук СССР. Работа должна развертываться как на базе Института чайного хозяйства, так и на отдельных чайных фабриках.

6) Советское хлебопечение, несмотря на огромный период существования хлебопечения как производства, является молодой отраслью промышленности, достигающей тем не менее высокой степени механизации.

Развитие советского хлебопечения в области механизации производства опережает рационализацию технологического процесса на основе изучения его биохимии, и поэтому дальнейший качественный рост хлебопечения в известной мере упирается в недостаточное понимание и овладение биохимией зерна, муки и теста.

Поэтому биологическая группа считает необходимым изучение ферментов зерна, муки и теста и катализируемых ими процессов в следующих направлениях:

а) выработка углубленных и экспрессных методов определения основных ферментов зерна, муки и теста на отдельных стадиях производственного процесса (липазы, каталазы, оксидазы, протеиназы, амилазы, инвертазы, фосфатазы),

б) изучение поведения и роли ферментов при тестоведении,

в) изучение методов получения зерна и муки с оптимальными хлебопекарными свойствами путем рациональной подсортировки зерна и валки муки.

Считать целесообразным изучение указанных выше вопросов в институтах Биогруппы Академии Наук СССР на кафедрах ВУЗов, в научно-исследовательских институтах, отраслевых институтах промышленности и заводских лабораториях.

7) Проделанная научно-исследовательская работа по биохимии производства табака в значительной мере выяснила сущность происходящих при этом процессов. Проведенная на этой основе реконструкция производственного процесса уже дала табачной промышленности Советского Союза положительные результаты, в частности по линии ферментации табака.

В связи с выяснившейся зависимостью биохимических процессов при «сушке» табака от внешних условий (температура и влажность) и возможности создания современной техникой искусственного климата, рекомендовать табачной промышленности использовать результаты исследовательской работы для рационального проведения «сушки» табака.

Для повышения качества продукции ферментационных заводов необходимо правильно организовать заводские лаборатории, контролиру-

ющие объективными методами сырье, поступающее на завод, а также самое выполнение производственного процесса.

Равным образом для табачной промышленности необходимы кадры технологов с высшим образованием и квалифицированных лаборантов. Считать целесообразным участие Института Биохимии Академии Наук СССР в дальнейшей разработке биохимии табачного производства.

8) Биологическая группа подчеркивает, что перед советской наукой стоят огромные задачи удовлетворения растущих запросов практики и реальной помощи стахановскому движению. Советская наука имеет все предпосылки для выполнения стоящих перед ней задач, и ее дальнейшее развитие возможно только в тесном единении с практикой теория должна развиваться, исходя из потребностей практики, и давая ей со своей стороны движущую силу для дальнейшего развития производительных сил Советского Союза.

ИЗВЕСТИЯ АКАДЕМИИ НАУК СССР. 1936
BULLETIN DE L'ACADÉMIE DES SCIENCES DE L'URSS

Classe des sciences mathématiques et naturelles

Отделение математических и естественных наук

Ю. В. РАКИТИН

СТИМУЛЯЦИЯ СОЗРЕВАНИЯ ДЫНЬ

(*Представлено академиком* А. А. Рихтером)

В результате ряда лабораторных и производственных опытов автору удалось выяснить, что лучшие результаты в отношении ускорения созревания и качества получаемой продукции получаются при применении этилена в концентрации: 1 объем этилена на 2 000 объемов воздуха. После 4—6-дневной обработки этиленом недозрелых плодов они приобретали качество зрелых дынь. Контрольные плоды созревали через 25—30 суток. Во второй части работы автором показано, что действие этилена на плоды выражается в повышенной напряженности превращения веществ и более быстром, по сравнению с обычным созреванием наступлении анаэробных процессов.

Показано так же, что решающее значение при ускорении созревания плодов принадлежит процессам, связанным с образованием этилового спирта.

Несмотря на множество ценных качеств (высокая сахаристость приятный запах, нежная вкусная мякоть, наконец, высокая урожайность) дыни небольшой приволжской полосы Сталинградского края имеют до сих пор только местное значение. Культура дыни здесь не выходит из рамок любительского бахчеводства — товарная бахча, как правило, отсутствует.

Вывоз плодовой продукции, несмотря на наличие дешевого водного транспорта, носит неорганизованный, случайный характер. Трудящиеся промышленных центров, не говоря уже о Москве и Ленинграде, даже волжских городов совершенно не знают таких высококачественных сортов дынь Сталинградского края, как Кассаба пятнистая, Кассаба морщинистая, Зимовка, Бирюче-Кутская.

Основной причиной слабого развития культуры дынь в Сталинградском крае являются неспособность зрелой продукции выдерживать продолжительное транспортирование.

Ближайшее знакомство с условиями культуры дыни привело к выводу, что затруднения с транспортом могут быть преодолены при условии транспортирования плодов в недозрелом виде (незрелые плоды транспортабельнее зрелых) и доведения их до полной зрелости в местах потребления.

Перевозка недозрелых дынь при наличии имеющегося хорошего водного и железнодорожного транспорта является вполне реальным мероприятием. Весь вопрос в том, чтобы разработать технически совершенные методы доведения плодов до зрелого состояния в местах их потребления.

При наличии таких методов быстрого искусственного дозревания дыни Сталинградского края могли бы приобрести такое же признание, как и их земляки, быковские арбузы — Мелитопольский 142 и другие, известные буквально всем рынкам средней и северной полосы Советского Союза.

Вместе с тем методы, разработанные для искусственного созревания сталинградских дынь, с успехом могли бы использоваться для доведения до зрелого состояния и дынь, выросших, но не успевших вызреть вследствие краткости вегетационного периода на бахчах средней полосы Союза.

Конкретная задача данной работы состояла в том, чтобы:

1) разработать применимый в производстве метод искусственного созревания зеленых сформировавшихся плодов дынь;

2) выяснить ближайшую биохимическую сущность ускорения созревания.

В качестве метода ускорения созревания был принят предложенный американскими исследователями Денни (5, 6, 7), Роза (8) и Гарвеем 1, 2, 3, 4) метод ускоренного созревания плодов, основанный на стимулирующем действии непредельных газообразных углеводородов (этилен, пропилен). Но так как литературные указания, за исключением небольшой заметки Гарвея (9), по вопросу дозревания дыни отсутствуют, то технику дозревания дынь пришлось разрабатывать заново.

Этилен был получен лабораторным путем по методу Эрленмейера и Бунте (10).

В опытах фигурировали три сорта дынь: Кассаба пятнистая Зимовка, Бирюче-Кутская.

Этиленовыми камерами служили специально изготовленные плотные деревянные ящики.

Плоды первой серии опытов дозревали в лабораторных камерах емкостью по 56 л, вторая серия носила полупроизводственный характер. Дозревание проводилось в камерах емкостью по 1 000 л.

В лабораторные камеры закладывалось по шести плодов (2 плода каждого сорта), в каждую же из 1 000-литровых камер закладывалось по 45 плодов (15 плодов каждого сорта).

Плоды тщательно подбирались по зрелости (все опыты прошли с зелеными сформировавшимися плодами).

Испытывалось действие четырех концентраций 1:1 000, 1:2 000, 1:5 000 и 1:10 000.

Газ впускался через каждые 23.5 часа. Перед газацией камеры

проветривались в течение получаса. Температура воздуха в камерах за период проведения опытов колебалась в пределах 19—25° С.

Результат проведения лабораторных и полупроизводственных опытов оказался одинаковым. Быстрее всех созревали плоды в камерах с концентрацией газа 1:1000 (через 48—96 часов после 1-й зарядки).

При этом созревание сопровождалось большой потерей сахара (дыни были зрелы, но не сладки). Созревание плодов в камерах с концентрацией газа 1:2000 запаздывало на 24—48 час. Созревание при концентрации 1:5000 затягивалось по сравнению с концентрацией 1:1000 на 72—96 час. Полное созревание в камерах с концентрацией газа 1:10000 наступало только через 12—15 суток после 1-й зарядки.

Плоды контрольной камеры созревали только через 20—25 дней после закладки опыта.

В результате работы выяснилось, что наилучшей концентрацией является 1:2000. После 4—6 зарядок газом этой концентрации плоды приобретали свойственные нормально созревшим дыням запах, вкус и сладость.

Следовательно концентрация 1:2000 для производственных целей вполне пригодна.

Положительные результаты опытов по стимуляции созревания позволили сделать переход к изучению теории вопроса. Литературу, трактующую вопрос теории искусственного созревания, я счел возможным в данной статье не приводить только потому, что она неоднократно приводилась мною в других работах. Здесь ограничусь лишь указанием на то, что ни одна из выдвинутых теорий не дает процессу стимуляции сколько-нибудь удовлетворительного объяснения.

Теоретические предпосылки работы, результаты которой излагаются в этой статье, состояли в следующем:

1. Скорость созревания есть результат напряженности превращения веществ. Отсюда факторы, увеличивающие напряженность обмена, ведут к ускорению созревания.

2. Одной из причин ускорения превращения веществ при действии стимуляторов является усиление процессов, связанных с образованием спирта, и повышение активности ферментов.

Интенсивность процессов, связанных с образованием спирта, учитывалась по количеству спирта. О работе ферментов судили по изменению активности каталазы и пероксидазы. Данные по активности ферментов давали также представление о напряженности обмена.

Первые опыты касаются выяснения динамики каталазы и пероксидазы при дозревании плодов в обычных условиях.

Для опытов выбирались крупные зеленые (сформировавшиеся) плоды, которые разрезались на две симметричные части. Плоскости разрезов подсушивались на солнце. После этого разрезанные плоды не-

поражались микроорганизмами в течение 8—10 дней. Такой метод половинок устранял ошибки, возможные в работе с целыми плодами. Половинки, находившиеся в этиленовой камере, за время 48 час. два раза обрабатывались газом в концентрации 1 : 2 000.

Таблица 1

Сорт дыни	Зрелость плода	Активность ферментов в см³ 0.1 *n* перманг.	
		Каталаза	Пероксидаза
Кассаба пятнистая	Зрелый	5.9	осадка нет
	Начало пожелтения	7.3	2.2
	Зелен. сформ.	7.9	4.2
	Зелен. несформ.	9.2	6.8
Бирюче-Кутская	Зрелый	7.0	1.5
	Начало пожелтения	11.9	2.2
	Зелен. сформ.	15.1	4.3
	Зелен. несформ.	16.4	6.7
Зимовка	Зрелый	9.3	3.2
	Начало пожелтения	10.5	5.6
	Зелен. сформ.	13.3	7.9
	Зелен. несформ.	16.8	10.5

Для определения активности ферментов навеска 20 г растиралась с песком. Растертая масса смешивалась с 50 см³ H_2O. Смесь фильтровалась через складчатый фильтр. Пероксидаза определялась по методу, описанному Сухоруковым, Гербер и др. (14).

В центрофужную пробирку наливалось 5 см³ фильтрата, 4 см³ 5% пирогаллола, 2 см³ 1% H_2O_2 и 2.5 см³ фосфатного буфера (pH=7.0).

Пробирка оставлялась при температуре 25° на 6 час. Образовавшийся за это время осадок центрофугировался, промывался водой, растворялся 80% H_2SO_4, и раствор титровался 0.1 *n* перманганатом.

Каталаза определялась по методу Баха и Опарина (15).

В эрленмейеровскую колбочку на 100 см³ наливалось 10 см³ фильтрата и 10 см³ 0.2% H_2O_2 и 20 см³ воды. Колбочка оставлялась при температуре 25° на 30 мин. После этого работа фермента останавливалась прибавлением 3 см³ 10% H_2SO_4. Неразложившаяся H_2O_2 оттитровывалась 0.1 *n* перманганатом.

Одновременно проводилось контрольное титрование. Активность каталазы выражалась в куб. сантиметрах децинормального перманганата, соответствовавшего количеству H_2O_2, разложенной ферментом.

Результаты опытов представлены в табл. 1 и 2.

Судя по изменению активности каталазы и пероксидазы, напряженность обмена и активность ферментов по мере развития плода затухают.

Спирт определялся по Никлу (11). Альдегид определялся по методу Г. Г. Агабалянц и О. С. Савенковой (12).

Приводимые таблицы дают представление о динамике C_2H_5OH и CH_3COH при созревании плодов в обычных условиях.

Таблица 2

Сорт	Зрелость плода	C_2H_5OH в навеске 100 г	CH_3COH в навеске 100 г
Бирюче-Кутская	Зрелый	37.0	0.79
	Начало пожелт.	24.1	0.20
	Зелен. сформ.	17.0	0.15
	Зелен. несформ.	11.5	0.10
Кассаба пятнистая	Зрелый	40.0	0.85
	Начало созрев.	35.1	0.44
	Зелен. сформ.	20.3	0.32
	Зелен. несформ.	14.0	0.22

Из табл. 2 ясно видно, что переход к зрелому состоянию сопряжен с увеличением образования спирта и ацетальдегида, что в свою очередь связано с отклонением обмена в сторону анаэробных процессов. Отмеченное отклонение обмена казалось возможно поставить в связь с изменениями в отношении активности ферментов аэробного и анаэробного обмена. Опыты с каталазой и пероксидазой, которые дают косвенное представление об окислительной способности клетки, показали, что по мере созревания окислительные свойства клетки падают.

Представление же об активности ферментов анаэробного обмена могло дать прямое определение активности карбоксилазы. Активность карбоксилазы определялась по метеду Нейберга (13). Навеска 50 г растиралась с песком, смешивалась с 50 см^3 воды и смесь делилась на две равные части. Одна часть с целью разрушения карбоксилазы кипятилась в течение трех минут (эта часть служила контролем). Вторая часть шла для опытного определения.

В колбочки, содержащие приготовленную смесь, приливалось по 15 см^3 децинормальной пировиноградной кислоты, 30 см^3 децинормальной K_2HPO_4 и по 15 см^3 1% бисульфита.

Колбочки ставились при температуре 20° на 8 час.

Ацетальдегид, образовавшийся вследствие работы карбоксилазы, связывался бисульфитом. Через 8 час. после начала опыта содержимое колбочек переносилось в дестилляционные колбы приборов для отгонки ацетальдегида. Для разрушения альдегидсульфитного соединения в колбы вносилось по 3 г $CaCO_3$. Освободившийся CH_3COH отгонялся обычным порядком.

Активность карбоксилазы выражалась в мг альдегида, высчитанного по формуле:

Число мг альдегида (активность карбоксилазы) = числу мг альдегида опытной колбочки — число мг альдегида контрольной колбочки — исходное число мг альдегида в навеске 25 г (исходное количество альдегида определялось в начале опыта).

Результаты опытов сведены в табл. 3.

Таблица 3

Сорт	Зрелость плода	Активность карбоксилазы в CH_3COH
Кассаба пятнистая	Зрелый	15.71
	Зеленый	3.65
Бирюче-Кутская	Зрелый	12.92
	Зеленый	0.99

Табл. 3 показывает, что при созревании плодов карбоксилазное действие клеток увеличивается.

Из приведенных опытов видно, что по мере созревания плодов затухает окислительная способность, обмен отклоняется в сторону анаэробиоза.

Следующие опыты касаются выяснения общего характера превращения вещества под влиянием этилена. Этиленовыми камерами служили уже описанные выше деревянные ящики. Этилен применялся в концентрации 1:2000.

В этих опытах был применен уже описанный выше метод половинок.

Плоды за время 48 час. два раза обрабатывались газом в концентрации 1:2000, после чего производились соответствующие определения.

В табл. 4 сведены цифровые данные первой серии опытов.

Таблица 4

Сорт	Условия	Активность фермента в см³ 0.1 *n* перманганата		Ацетальдегид в мг на 100 г массы плода	Спирт в мг на 100 г массы плода
		Каталаза	Пероксидаза		
Бирюче-Кутская	Контроль	14.3	2.4	0.176	22.5
	Этилен	14.9	7.0	0.270	31.2
Кассаба пятнистая	Контроль	10.7	2.5	0.145	22.0
	Этилен	12.1	4.5	0.253	32.1
Зимовка	Контроль	13.5	4.2	0.155	26.0
	Этилен	14.8	7.8	0.294	32.0

Вторая серия опытов (табл. 5), проведенных при соблюдении прежних условий, дала аналогичные результаты.

Таблица

Сорт	Условия	Альдегид в мг на 100 г массы плода	Спирт в мг на 100 г массы плода
Бирюче-Кутская	Контроль	0.185	18.5
	Этилен	0.291	25.8
Кассаба пятнистая	Контроль	0.292	20.1
	Этилен	0.553	25.4
Зимовка	Контроль	0.311	20.4
	Этилен	0.521	24.6
Кассаба морщинистая	Контроль	0.255	19.1
	Этилен	0.396	27.3

Полученный цифровой материал позволяет считать, что этилен увеличивает напряженность биохимических процессов и способствует отклонению обмена в сторону образования C_2H_5OH.

Отсюда возникает вопрос: не является ли отмеченное отклонение обмена одним из основных звеньев цепи процессов, совершающихся в живой клетке под влиянием этилена. Иначе говоря, не есть ли вызванный этиленом частичный анаэробиоз, показателями которого являются CH_3COH и C_2H_5OH, хотя бы ближайшей (только ближайшей) сущностью ускорения созревания плодов и не являются ли продукты анаэробного обмена, в том числе CH_3COH и C_2H_5OH действующим началом повышенной напряженности превращения веществ.

Ответ на эти вопросы можно было дать только после опытов по инъекции продуктов анаэробного обмена (хотя бы C_2H_5OH) и после опытов по разной продолжительности выдерживания плодов в анаэробных условиях, т. е. для того, чтобы ответить на поставленные вопросы, нужно было первоначально иметь картину того, как влияет инъекция продуктов анаэробиоза и временный анаэробиоз на скорость созревания плодов дыни.

Первый опыт показывает возможности ускорения созревания плодов под влиянием инъекции спирта.

Были применены следующие концентрации спирта: 48%, 24%, 12%. Инъекция производилась в полости плода через проделанное пробочным сверлом отверстие. Спирт вводился из расчета 1 $см^3$ на 100 г веса плода. Для каждой концентрации бралось по 25 зеленых сформировавшихся плодов сорта Зимовка. Контроль состоял также из 25 плодов.

Инъецированные плоды созрели через 5—8 дней после инъекции, при этом они отличались повышенным приятным эфирным запахом.

При введении 24—48% растворов в местах соприкосновения спирта с тканью наблюдались ожоги. Значительной разницы в скорости созре-

вания при инъекции растворов различной концентрации не замечалось. Контрольные плоды созрели только через 25 дней после начала опыта.

Второй опыт выясняет действие временного выдерживания плодов в анаэробных условиях на скорость созревания.

В качестве камер для получения анаэробных условий были использованы эксикаторы. После выдерживания в эксикаторах плоды дозревали в обычных комнатных условиях. Всего было взято четыре эксикатора, в каждый из них закладывалось по два плода дыни Бирюче-Кутская.

Первый эксикатор открывался через 12 час. после зарядки, второй — через 24, третий — через 36, четвертый — через 48 час.

Одновременно был произведен учет динамики C_2H_5OH и CH_3COH при выдерживании дынь в анаэробных условиях (CH_3COH и C_2H_5OH определялись тотчас после вынимания плодов из эксикаторов). В контрольных плодах CH_3COH и C_2H_5OH определялись в момент закладки опыта. Результаты этого учета представлены в табл. 6.

Таблица 6

Продолжит. выдерживан. в анаэробн. условиях в часах	CH_3COH в мг на 100 г плода	C_2H_5OH в мг на 100 г плода	Период созревания в сутках
12	0.110	22.0	12
24	0.80	41.0	10
36	1.10	75.6	9
48	1.93	80.0	13
Контроль	0.086	18.0	14

Два последних опыта показывают, что продукты анаэробного обмена (все равно были ли они введены извне, или образование их было вызвано анаэробными условиями) приводят к ускорению созревания.

Гор (16) нашел, что недозрелые плоды хурмы, обработанные наркотиками — эфиром, хлороформом, — теряли вяжущий вкус (т. е. по качествам приближались к зрелым плодам). Аналогичные результаты получил Оверхользер (17), применяя пары спирта и препараты этилена.

Солдатенков (18) достигал ускорения созревания плодов помидор, хурмы и лимонов при помощи паров спирта и смеси этилена с парами спирта. В 1935 г. в моей совместной работе с Булатовым и Столяровым (19) (Горьковский сельскохозяйственный институт) ускорение созревания плодов помидор достигалось при помощи этилена, его препаратов, временного анаэробиоза, инъекции пировиноградной кислоты, этилового спирта, уксусного альдегида и действия теплых ванн. Вместе с этим было показано, что во всех перечисленных случаях имеет место отклонение обмена в сторону образования этилового спирта.

Сопоставление литературных и экспериментальных данных этой работы приводит к выводу, что временный анаэробиоз, а также все факторы, способствующие отклонению обмена в сторону образования спирта, ускоряют созревание плодов.

Следовательно, ближайшую сущность ускорения созревания можно усмотреть в отклонении обмена в сторону усиления анаэробных процессов или, что то же самое, в более быстром наступлении такого состояния плода, возникновение которого при обычном созревании совершается медленным темпом.

И теперь уже совершенно ясно, что процессы, связанные с образованием спирта, являются важным звеном в сложной совокупности процессов, составляющих созревание.

Также ясно, что, чем раньше будут созданы условия, способствующие проявлению этого звена, тем созревание плодов наступит раньше.

Подводя итоги работы, я считаю возможным сделать следующие выводы.

1. Созревание плодов дыни сопровождается падением окислительных и усилением анаэробных процессов, показателями которых являются CH_3COH и C_2H_5OH.

2. Действие этилена на плоды выражается в повышенной напряженности превращения веществ в более быстро, по сравнению с обычным созреванием, наступающем усилении анаэробных процессов, накоплении CH_3COH, C_2H_5OH (по всей вероятности и других продуктов обмена), которые в свою очередь, стимулируя созревание, могут действовать как стимуляторы.

3. Лучшие результаты в смысле ускорения созревания и качества получаемой продукции получены при применении этилена в концентрации 1 объем этилена на 2000 объемов воздуха. После четырех- шестидневной обработки этиленом сформировавшихся зеленых плодов они приобретают качества обычных зрелых дынь. Контрольные плоды созревают через 25—30 суток.

4. Метод искусственного дозревания при помощи этилена позволяет наладить систематический вывоз транспортабельной недозрелой продукции и последующее доведение ее до зрелого состояния в местах потребления. Вместе с этим разработанный метод может быть использован для дозревания дынь, выросших, но недозревших на бахчах средней полосы Союза.

Работа проходила при участии студентки Саратовского университета Ф. А. Гиттельсон.

В заключение считаю необходимым за большую помощь в организации работы выразить дирекции З. О. С. и зав. Лабораторией биохимии и физиологии растений З. О. С. Елене Ивановне Дворецкой искреннюю благодарность.

ЛИТЕРАТУРА

1. Harvey R. B., Minn. Agr. Expt. Sta., Bull. 222, 1—20, 1923.
2. » Market Growers Journ., 38, 237, 1926.
3. » Amer. Produce Growers, 2, 20, 27, 28, 1927.
4. » Bull. 222, University of Minnesota, 1922.
5. Denny F. E., Journ. Agr. Res., 27, 757—771, 1924.
6. » Bot. Ges, 77, 322—329, 1924.
7. » Journ. of Agricult. Res., 10, 1924.
8. Rosa S. T., Proc. Amer. Soc. Hort. Sci., 22, 315—322, 1915.
9. Гарвей, Труды по прикл. ботанике, генетике и селекции, вып. 1. 179, 1927—1928.
10. Гаттерман и Виланд, Практич. работы по органич. химии, 1932.
11. Nicloux M., Bull. Soc. Ch., 14, 862, 1932.
12. Агабалянц Г. Г. и Савенкова О. С., Исследования продуктов переработки винограда, 1932.
13. Рона П., Практикум по физиологической химии, 187, 1930.
14. Сухоруков, Гербер и Барабанова, Ученые записки Саратовского университета, вып. 1,
15. Бах и Опарин, Bioch. Z., 134, 183, 1922.
16. Gore, Bureau of Chem., U. S. Dept. of Agr. Bull., 141, 1911; 155, 1912.
17. Overholser, Proc. Amer. Soc. Hort. Sci., 256—265, 1927.
18. Солдатенков С. В., ДАН, I, № 2, 1934, I, № 7—8, 1935.
19. Ракитин, Булатов, Столяров, Известия Акад. Наук, № 8—9, 1935 г.

J. V. RAKITIN. STIMULATION OF THE RIPENING OF MELONS

SUMMARY

The work reported in this article consisted of two parts:

1) The working out of a method applicable on an industrial scale to the ripening of melons taken green from the fields; 2) ascertaining as nearly as possible the biochemical nature of natural and of artificial ripening.

The work was carried on at the Bykovskaya District Station of Melon Cultivation during the growing season of 1935 on the following varieties of melon: Cassaba spotted, Cassaba wrinkled, Biriuche-Kutskaya and Zimovka. To stimulate ripening, ethylene was used.

From the work done, the following conclusions may be drawn:

1. The ripening of melons is accompanied by a fall in the oxidation processes and by an intensification of the anaerobic ones, as shown by the content of CH_3COH and C_2H_5OH.

2. The action of ethylene on the melons leads to intensified transformation of substances, to a quicker onset, as compared with ordinary ripening, of intensification of the anaerobic processes of accumulation of CH_3COH, C_2H_5OH (as also, probably, other products), which in their turn stimulate ripening.

3. The best results in hastening ripening and in quality of product are obtained when using ethylene in concentrations of 1 volume of ethylene, to 2 000 volumes of air. After four to six days treatment with ethylene, the green melons acquired the qualities of ripe ones. The control fruits ripened after 25 to 30 days.

4. The method of artificially bringing melons to ripeness by means of ethylene makes it possible to put in operation the systematic shipping of transportable unripe products and a subsequent bringing them to ripeness at the places where they are to be consumed. Together with this, the method worked out can be used to bring melons to ripeness in the middle belt of the Union where they grow but do not ripen in the fields.

ИЗВЕСТИЯ АКАДЕМИИ НАУК СССР. 1936
BULLETIN DE L'ACADÉMIE DES SCIENCES DE L'URSS
Classe des sciences mathématiques et naturelles
Отделение математических и естественных наук

С. В. СОЛДАТЕНКОВ, О. А. ГРЕЧУХИНА, А. Е. ДОЛЖИКОВ и Г. Я. КАЛЛАС

МАТЕРИАЛЫ К ИЗУЧЕНИЮ НАЛИВАНИЯ И СОЗРЕВАНИЯ ПЛОДОВ ТЫКВЕННЫХ

(*Представлено академиком* **А. А. Рихтером**)

На основании экспериментальных исследований над созреванием плодов тыквенных авторами установлено, что одним из факторов наливания плодов является разница осмотического давления между листьями и плодами, причем в последних во время роста оно ниже, чем в первых.

Инъекция 48% спирта или этилена в спирту вызывает ускорение созревания дынь и огурцов, что объясняется временным усилением дыхания и повышением активности каталазы, особенно в центральной, содержащей семена, части. Содержание сахаров в огурцах достигает максимума к моменту съемной спелости, затем снижается. Этиловый спирт, введенный внутрь огурцов, вызывает их созревание и сообщает им запах дынь.

Для изучения вопросов наливания и созревания плодов, тыквенные — дыня и особенно огурец — являются несомненно очень удобным материалом.

Быстрый рост плодов огурцов, длительное и обильное плодоношение дают возможность поставить ряд последовательных опытов в течение одного вегетационного периода. Последний может быть значительно удлинен в культивационных сооружениях — парниках, теплицах и т. д.

У тыквенных, благодаря резкому разграничению околоплодника и центральной, богатой семенами части плода можно раздельно изучать процессы наливания и созревания как в околоплоднике, так и в семенах.

Работ по созреванию тыквенных очень немного, и ограничиваются они преимущественно динамикой углеводов или применением этилена к дозреванию плодов.

Предлагаемая работа является попыткой начать систематическое изучение наливания и созревания как нормального, так и искусственного плодов тыквенных. Сообщаемые здесь результаты получены преимущественно на огурцах, как наиболее доступном в Ленинградской области материале.

I. Материалы к физиологии наливания огурцов

Для работы по изучению наливания огурцов необходимо иметь более или менее одинаковый по возрасту и размерам материал. Плоды, подобранные только по возрасту, едва ли являются физиологически однородными. Скорость роста плода, несомненно, помимо срока его завязывания, определяется рядом других факторов. Поэтому внимание должно быть направлено в первую очередь на выяснение условий получения по возможности однородных плодов.

А. Размеры плодов в зависимости от их положения на главной и боковых плетях

Опыт проведен в теплице на огурцах сорта Неросимые. 4/VIII на главном стебле и боковых плетях отобрано после опыления 24 завязи размером 23×11 мм.

11/VIII, через семь дней, вновь произведено измерение этих же плодов. Результаты даны в табл. 1.

Таблица 1

Размеры плодов одного возраста (диаметры завязей в мм)

														Среднее
На главном стебле	75.10	33.13	36.13	33.12	33.13	27.14	40.17	27.10	64.35	46.18	42.12	—	—	37.15
На боков. плетях	28.9	34.15	47.18	58.22	85.50	58.25	29.13	32.14	64.27	67.26	51.20	32.13	92.40	52.23

Сравнение цифр показывает довольно большую пестроту роста плодов. В то время как одни плоды увеличились незначительно, другие выросли в 2—3 раза. Плоды, расположенные на боковых плетях, обнаруживают явное преимущество в размерах сравнительно с плодами главного стебля. Приведенные цифры дают основание сделать следующие выводы:

1. Плоды одного возраста наливаются неравномерно, на боковых плетях они растут быстрее, чем на главном стебле.

2. Выбор завязей одного возраста не может гарантировать однородности материала.

Очевидно, скорость наливания плодов зависит в первую очередь от количества ассимиляторов и их распределения между плодом и другими растущими частями. Поэтому, удалив все растущие части, можно было ожидать более равномерного роста огурцов.

Б. Влияние растущих частей на наливание плода

17/VIII отобрано 10 кустов сорта Муромский, на пяти из них удалены все точки роста — цветы и молодые листья. Оставлены только

завязи, закончившие цветение. Пять растений оставлены контрольными 27/VIII, через десять дней, опыт закончен. Результаты представлены в табл. 2.

Таблица 2

Рост плодов на подрезанном растении (диаметры плодов в мм)

№ плода	Положение плода	17/VII	20/VII	22/VII	24/VII	26/VII
1	Боков. плеть, 2-й ярус	28.11	53.21	66.28	80.46	84.44
2	» » 3-й »	28.12	56.25	67.32	80.40	86.48
3	» » 3-й » . . .	28.12	47.19	58.24	72.32	79.40
4	» » 3-й »	28.11	58.25	70.34	85.42	93.49
5	» » 3-й »	23.9	48.20	60.26	74.36	83.45
6	Главн. стеб. 7-й ярус	18.8	27.13	33.15	35.25	35.25
7	» » 10-й »	13.7	28.11	28.11	28.11	32.16

Из табл. 2 видно, что плоды, расположенные на боковых плетях, наливались равномерно, и за десять дней достигли съемных размеров. Плоды главного стебля значительно отстают в росте. Темп прироста отдельных плодов на боковых плетях почти одинаков, как это видно из табл. 3.

Таблица 3

Прирост длины плодов (в мм)

Дни / Плоды	17—20/VII	20—22/VII	22—24/VII	24—26/VII
1	25	13	14	4
2	28	11	13	6
3	19	11	14	7
4	30	12	15	8
5	25	12	14	9

На кустах, служивших контрольными, наливание плодов шло так же неравномерно, как и в опыте без подрезок (табл. 1).

Повторный опыт дал такие же результаты.

3/VIII отобрано 10 более или менее одинаковых кустов. На пяти были удалены точки роста, молодые листья и цветы; на других пяти кустах удалены только более крупные завязи. Плоды измерялись через шесть дней; 15/VIII опыт прекращен. Результаты измерений сведены в табл. 4.

Приведенные данные еще раз подтверждают вывод, что плоды на подрезанных кустах наливаются равномернее, чем на неподрезанных.

Таблица 4

Рост плодов на кустах (диаметры в мм)

№ опыта	Положение плода	3/VIII	9/VIII	15/VIII
	1. Подрезанные			
1	Боков. плеть 2-й ярус	29.11	60.29	91.42
2	» » 2-й »	13.5	13.7	85.38
3	» » 1-й »	16.7	48.28	—
4	» » 4-й »	23.10	70.28	93.44
5	» » 4-й »	12.5	12.7	—
6	» » 5-й »	25.11	68.12	94.46
7	» » 5-й »	16.7	16.7	—
8	Главн. стеб. 10-й ярус	20.9	50.28	86.41
	2. Не подрезанные			
1	Боков. плеть 2-й ярус	30.10	70.30	80.48
2	» » 3-й »	20.9	51.18	88.40
3	» » 5-й »	20.9	34.11	—
4	Главн. стеб. 6-й »	20.9	20.9	—
5	» » 6-й »	20.9	20.9	—
6	» » 8-й »	20.10	20.10	—

При двух завязях, расположенных на одной плети, меньшая почти не растет до удаления более крупной.

Без подрезки наливание плодов идет менее равномерно; при этом большинство завязей не растет до полного наливания нескольких плодов.

На равномерность наливания плодов, кроме потребляющих частей, может влиять и количество ассимилятов, а стало быть и величина листовой поверхности. Для выяснения влияния листовой поверхности на наливание плодов она была определена как на контрольных, так и на опытных кустах.

По окончании опыта листья срезались с куста; разрезались вдоль средней жилки на две половинки. Одна половина листьев шла на определение сухого веса непосредственно, из другой же вырезалась определенная площадь, а затем определялся сухой вес. Зная вес листьев и вес площади в 1 дм², легко высчитать листовую поверхность. Для проверки точности такого определения площадь листьев одного куста была сфотографирована на светочувствительную бумагу. Разница в определениях незначительная. Площадь, вычисленная по сухому весу, равна 17.7 дм², по фотографии 18.3 дм². Ошибка 3.3%. Сопоставление урожайности огурцов и соответствующей листовой поверхности дано в табл. 5.

Из табл. 5 видно, что непосредственной связи между листовой поверхностью и скоростью наливания плодов нет.

На основании всех вышеприведенных данных были сделаны следующие выводы, которыми мы пользовались в опытах по искусственному и нормальному созреванию плодов.

Таблица 5

Урожай плодов в граммах на 1 дм² листовой поверхности

Куст	Листовая поверхность в дм²		Урожай плодов в г		Урожай плодов в г на 1 дм²
Подрез.	26.2		560.5		21.4
»	20.7		397.6		19.2
»	28.8		462.0		16.1
»	17.7		460.0		26.0
»	17.7		200		16.0
	Старая листва	Молодая листва	Общая поверхность листьев	Урожай плодов в г	
Неподрез.	21.9	6.0	27.9	336	12.0
»	32.1	6.4	38.5	986	25.0
»	51.0	26.2	77.2	413.3	5.4

Для получения одновозрастных физиологически более или менее однородных плодов необходимо удалять с плетей точки роста, молодые листья, цветы, оставив по одной завязи на плети примерно одинаковых размеров и возраста.

В. Осмотическое давление при наливании плодов

Наблюдая цветение и наливание завязей, можно заметить, что при одновременном цветении 2—3 завязей на одном месте растет только одна, остальные же трогаются в рост после удаления выросшего плода или же отпадают.

Очевидно тронувшийся в рост плод обеспечивает себе более благоприятные условия для притока органических веществ.

Согласно теории Мюнха (1) о передвижении пластических веществ в растении ток их в первую очередь направляется туда, где разность осмотического давления между местом образования органических веществ и местом потребления будет наибольшая.

Для выяснения роли осмотического давления в наливании плодов были поставлены опыты на огурцах сорта Муромский и Драгоценность рынка.

На пяти кустах отобраны плоды, разделенные по размерам и возрасту на семь групп. Криоскопически определялось осмотическое давление сока плодов по группам.

Результаты даны в табл. 6.

Как видно из этих данных, осмотическое давление по мере роста плода падает. В плодах среднего размера оно примерно на 0.5 ат ниже, чем в завязях.

Если исходить из теории Мюнха о передвижении веществ в растении, то при наличии на одной плети двух плодов различных размеров

Таблица 6

Осмотическое давление в плодах в зависимости от их размера

Группы	I	II	III	IV	V	VI	VII
1. Количество плодов . .	10	7	6	11	10	8	10
2. Возраст плодов в днях	1—2	3	4	4—5	5—6	6—7	7 и выше
3. Вес плодов в г	2	4—7	8	19	31.4	47.7	81
4. Средн. размер диаметра плодов в мм . .	27.11	34.15	42.19	52.25	60.32	72.35	73.45
5. Осмотическое давление в ат	5.22	5.02	4.98	4.92	4.74	4.86	4.86

в первую очередь будет наливаться плод большого размера, имеющий меньшее осмотическое давление. Само же понижение осмотического давления можно рассматривать как следствие начавшегося роста плода, связанного с расходом и превращением пластического вещества. Растущие плоды, потребляя органические вещества, не дают им растекаться равномерно по всем завязям.

При изучении оттока ассимилятов из листа Гречухиной (2) было установлено, что отток у огурцов целиком происходит во вторую половину дня, начиная с 14 часов. В это же время осмотическое давление в листьях достигает максимальной величины (3).

Для определения разности осмотического давления в листьях было взято два срока — 8 час. утра — отсутствие оттока и 14 час. дня — начало оттока. 3/VIII отобрано несколько кустов сорта Муромский, с которых брались средние пробы листьев, черешков, стеблей и плодов (6—8 штук).

Результаты измерений даны в табл. 7.

Таблица 7

Изменение осмотического давления

Сорт и время	Объект				
	Листья	Черешки	Стебли	Плоды	Разность между листьями и плодом
Муромский 8 час.	5.54	6.09	6.80	4.86	0.68
» 14 »	8.13	6.15	6.44	5.44	2.69
Разница осмот. давления	2.59	0.06	—0.36	0.58	—
Драгоценность рынка 7 час. . . .	5.24	6.45	6.53	5.60	—0.36
» » 13 » . . .	6.86	6.11	6.45	5.80	1.06
Разница осмот. давления	1.62	—0.34	—0.08	0.20	—

Осмотическое давление в листьях в течение дня повышается, как видно из табл. 7, для сорта Муромский на 2.59 ат, для сорта Драго-

ценность рынка на 1.62 ат. В черешках и плодах величина осмотического давления колеблется незначительно. Разность в осмотическом давлении между листьями и плодами к началу оттока достигает 1—2.7 ат, почему осмотическое давление и может служить движущей силой для притекания органических веществ в плод.

Прекратившие свой рост плоды имеют осмотическое давление почти одинаковое с листьями. Определение разницы осмотического давления в листьях и плодах кабачков дало следующие результаты, сведенные в табл. 8.

Таблица 8

Осмотическое давление в листьях и плодах кабачков

Плоды	Листья	Плоды	Разность осмот. давления
Прекратившие рост .	6.71	6.80	0.09
Растущие	6.98	5.75	+1.23

По прекращении роста плода осмотическое давление в нем выравнивается с осмотическим давлением в листьях. Изучение осмотического давления в плодах и листьях приводит к выводу, что:

1. Плоды разной величины имеют различное осмотическое давление; быстро растущие плоды имеют пониженное осмотическое давление.

2. Осмотическое давление в растущих плодах ниже, чем в листьях во время оттока ассимилятов из последних.

3. Плоды, прекратившие свой рост, имеют осмотическое давление такое же, как и листья.

4. Разность осмотического давления между листьями и плодами является одним из факторов наливания плодов.

II. Влияние этилового спирта на созревание плодов тыквенных

Опыты С. В. Солдатенкова и М. Г. Кубли (4) показали, что этиловый спирт является эффективным стимулятором созревания томатов, будучи инъецирован в плод. Плоды, независимо от сорта и возраста, приобретают, оставаясь на растении, все признаки зрелости через 10—12—14 дней.

Представляла известный интерес проверка действия спирта и на других плодах. Предварительные опыты с огурцами, показали, что и тыквенные отвечают на воздействие спирта ускорением созревания. Огурцы не только принимают яркожелтую окраску, но одновременно с ней приобретают резко выраженный запах дыни, совершенно им не свойственный.

Эти предварительные наблюдении и послужили основанием для расширения опытов по дозреванию тыквенных — огурцов и дынь — в 1934 г.

Хотя дозревание огурцов и не представляет сколько-нибудь практического интереса, однако благодаря доступности этого материала можно

было выяснить некоторые вопросы при нормальном и искусственном созревании тыквенных.

В качестве подопытного материала нами были взяты сорта дынь Сорокодневка и Прескотт и огурцы Неросимые и Клинские. Опыты проведены в теплицах. Дыни выращивались в больших ящиках (200 × 50 × 25 см) по 3 растения в каждом. Огуречная рассада высаживалась в грунт теплиц. Для подбора материала сразу после опыления отмечались завязи. Для опыта употреблялись плоды одного возраста и размера. На каждом растении было оставлено 4—5 плодов.

А. Дозревание дынь и огурцов

Для опытов подбирались пары плодов одного возраста (разница 1—2 дня), на одном растении и возможно одинакового расположения.

По достижении плодами размеров 7—8 см в диаметре для сорта Сорокодневка, в 12—14 см для Прескотт произведена инъекция 48% спирта по 2 или 4 см³. Такая порция вводилась с двух противоположных точек неглубоко. После инъекции над каждой парой плодов велись наблюдения за окраской и рисунком кожи. Внешние признаки зрелости у взятых сортов выражены очень ясно.

По каждому сорту для опыта было отобрано по 10—12 пар плодов. Несколько опытов проведено в парнике. Результаты опытов даны в табл. 9.

Таблица 9

Влияние спирта на созревание дынь

Сорта и варианты	Время			
	Опылен.	Инъекция	Созревание	
I. Сорокодневка				
1 Контроль	19/VII	—	10/IX	разница 8 дней
Опыт	19/VII	4 см³ 48° — 14/VIII	2/IX	
2 Контроль	21/VII	—	12/IX	разница 6 дней
Опыт	21/VII	4 см³ 48° — 18/VIII	6/IX	
3 Контроль	23/VII	—	13/IX	разница 5 дней
Опыт	23/VII	4 см³ 48° — 18/VIII	8/IX	
II. Прескотт				
1 Контроль	23/VII	—	10/IX	разница 6—8 дней
Опыт	23/VII	4 см³ 48° — 15/VIII	2/IX	
Опыт	23/VII	4 см³ 48° — 15/VIII	4/IX	
2 Контроль	23/VII	—	12/IX	разница 10 дней
Опыт	23/VII	8 см³ 48° — 15/VIII	2/IX	
3 Контроль	23/VII	—	12/IX	разница 8 дней
Опыт	23/VII	8 см³ 48° — в 4 точки 15/VIII	4/IX	
4 Контроль	27/VII	—	19/IX	разница 2 дня
Опыт	27/VII	4 см³ 96° — 6/IX	17/IX	
5 Контроль	27/VII	—	17/IX	разница 5 дней
Опыт	27/VII	4 см³ 48° — 15/VIII	12/IX	

В подавляющем большинстве опытов результаты были положительные. Обработанные спиртом плоды созревали раньше контрольных. Для Сорокодневки, скороспелого сорта, разница была обычно на 5—8 дней, для Прескотт на 6—10 дней в пользу опытных плодов. В очень редких случаях контрольный плод созревал раньше опытного на 1—2 дня или одновременно (сорт Сорокодневка).

Инъекция спирта в томаты, ускоряя созревание, в то же время задерживает их рост. Плоды остаются почти такими по величине, какими они были в момент инъекции. Для выяснения влияния спирта на рост плодов тыквенных была произведена инъекция подобранных в пары огурцов сорта Клинский. Размеры были определены по двум диаметрам сразу после инъекции и через 10 дней.

Результаты даны в табл. 10.

Таблица 10

Влияние инъекции спирта на рост огурцов

Инъецированы			Контроль		
15/VIII	25/VIII	Прирост	Прирост	15/VII	25/VII
139×40	185×60	46×20	38×20	115×40	153×60
115×41	122×49	7×8	19×12	95×35	114×47
131×45	141×50	10×5	15×6	147×49	162×56
130×45	143×53	13×8	17×11	122×40	139×51
122×51	134×60	12×9	17×12	127×53	144×65
113×43	128×52	15×9	9×5	113×46	122×51
122×47	133×53	11×6	15×6	123×47	138×53
95×32	116×40	21×8	18×12	95×52	113×46
155×57	176×67	21×10	27×13	151×58	178×71
115×46	138×59	23×13	34×18	116×45	150×63
73×27	89×39	16×12	39×22	72×28	111×50

Среднее 18×9.28, 22.5×11.5

Подобный же опыт был поставлен с дыней сорта *Microcarpus*. Результаты даны в табл. 11.

Таблица 11

Влияние инъекций спирта на рост дыни *Microcarpus*

Инъецированы 2 см^3 40°			Контроль		
25/VIII	4/IX	Разница	Разница	25/VIII	4/IX
81×72	79×72	−2×0	2×3	83×73	85×76
65×56	68×63	3×7	4×5	65×54	69×59
66×60	65×61	−1×1	6×3	65×61	71×64
61×58	61×60	0×2	11×5	69×65	80×70
78×71	73×74	5×3	2×2	62×63	64×55
63×55	63×57	0×2			

Сравнение прироста показывает, что спирт не прекращает роста огурцов, но задерживает его примерно на 20%.

Опыт с дыней *Microcarpus* мало показателен, так как плоды к моменту инъекции, как оказалось, достигли максимальной величины. Разница созревания была на 1—2 дня.

Явное ускорение созревания дынь под влиянием спирта несомненно связано с нарушением в плодах нормального хода физиологических процессов. Можно было думать, что эти нарушения могут выразиться в повышении энергии дыхания, как одного из важнейших процессов, в изменении работы ферментативного аппарата, в частности каталазы, как показателя активности жизненных процессов, в расходе углеводов и т. п.

Для изучения упомянутых процессов опыты были поставлены на огурцах, как на более доступном материале.

Сорта огурцов взяты Неросимый и Клинский. Опыты проведены на плодах, находившихся на растении и снятых с него. Для определения энергии дыхания дынь взят сорт *Microcarpus.*

Плоды для опытов подбирались в пары одного возраста и размера на одном и том же растении. Один из плодов обрабатывался, второй служил как контрольный. Спирт в огурцы вводился 48% в количестве 2 см³ по 1 см³ с каждого конца. Дыхание по углекислоте определялось через 24 часа в течение 6—8 дней, температура 20—23°.

Результаты для огурцов и дынь сведены в табл. 12 и 13.

Таблица 12

Энергия дыхания плодов, сорт Клинский (инъекция 15/VIII)

Дата	Часы после иньекции	Вес плода в г	Длит. опред.	CO_2 в мг	CO_2 в 1 час на 1 г	CO_2 в %
16/VIII	21	контр. 93.04 оп. 107.1	4.30	46.6 62.0	0.096 0.148	100 154
17/VIII	45	контр. 111 оп. 104.3	6.0	53.6 76.4	0.086 0.115	100 134
18/VIII	70	контр. 84.3 оп. 73.3	6.0	33.3 44.1	0.065 0.100	100 154
19/VIII	99	контр. 108 оп. 103.8	6.0	64.0 49.26	0.100 0.080	100 80
21/VIII	143	контр. 137.6 оп 156.6	5.0	68.5 55.0	0.100 0.0,0	100 70

Спирт вызывает вспышку дыхания у огурцов на 34—54%, длящуюся около 3 дней; затем энергия дыхания падает несколько ниже, чем в контрольных плодах. Такой же характер действия спирта на дыни: временная вспышка дыхания сменяется его падением за уровень нормального. Дыхание нормальных плодов *Microcarpus* также снижается по мере созревания: с 0.14 мг на 1 г веса в начале опыта до 0.11—0.08 мг на 1 г веса к моменту созревания.

Таблица 13

Энергия дыхания дыни *Microcarpus*

Дата	Длительность определения	Объем плода см³	CO_2 в мг	CO_2 в мг 1 час на 1 см³	CO_2 в %	Вариант
3/IX	4 часа	1-й 132	73.76	0.140	—	По инъекции
		2-й 139	77.41	0.140	—	
		3-й 149	85.12	0.143	—	
4/IX	5 час.	1-й 136	55.7	0.137	—	По инъекций
		2-й 138	55.7	0.135	—	
		3-й 158	64.0	0.135	—	
5/IX	5 час.	1-й 145	69.8	0.160	123	2 см³ спирт
		2-й 143	55.7	0.130	100	контр.
		3-й 158	82.2	0.173	133	3 см³ спирт
5/IX	1 ч. 50 м. . . .	1-й 145	47.4	0.178	123	опыт
	Через 4 часа .	2-й 143	37.8	0.144	100	контр.
	после инъекции	3-й 158	56.9	0.195	136	опыт
6/IX	2 часа	1-й 149	37.1	0.100	85	опыт
		2-й 148	42.9	0.116	100	контр.
		3-й 155	44.2	0.114	100	опыт
8/IX	5 час.	1-й 149	46.0	0.061	76	опыт
		2-й 148	57.0	0.080	100	контр.
		3-й 160	49.3	0.061	76	опыт 23—25°

Спирт, ускоряя созревание плодов, вместе с тем повышает временно энергию дыхания их. Между созреванием и дыханием, возможно, существует тесная связь. Однако характер этой связи – причинная она или только коррелятивная — еще не ясен.

Определенная связь существует также между активностью каталазы и созреванием. Мы произвели ряд определений активности каталазы в огурцах, отдельно в околоплоднике и центральной части.

В тщательно подобранных по возрасту, весу и положению парах огурцов сортов Клинский и Неросимые один плод инъецировался 2 см³ 48% раствора спирта. Второй плод служил контрольным. Через каждые 4 5 дней в течение двух недель часть плодов снималась и анализировалась. Активность каталазы определялась отдельно в околоплоднике и центральной семянной части.

Плоды разрезались вдоль пополам. Тщательно выскабливалась центральная семенная часть. Затем материал раздельно пропускался через мясорубку. Масса растиралась в ступке и отжималась. В полученном соке газометрически определялась активность каталазы. Бралось 2 см³ сока и 1 см³ 2% перекиси водорода. Отсчет производился в течение 2 мин. Результаты даны в табл. 14. Кроме цифр активности каталазы в таблице дано отношение активности каталазы в периферической части плода и в центральной для каждого анализа.

Как видно из табл. 14 спирт стимулирует активность каталазы как в периферической, так и особенно в центральной части плода.

Таблица 14

Влияние спирта на активность каталазы в огурцах (на растении)

Сорт и время анализа	Количество см³ O_2						Состояние плодов
	Контроль			Опыт			
	периф.	центр.	периф. / центр.	периф.	центр.	периф. / центр.	
Клинский 6/VIII . .	2.1	5.8	0.36	—	—	—	Зеленый
10/VIII	1.3	3.5	0.37	1.7	6.2	0.27	Контр. зелен. опыт. бледножелт.
16/VIII	1.3	7.2	0.18	1.1	16.6	0.07	Контр. бледнозелен. опыт. желто-зелен.
21/VIII	5.2	0.5	10.4	3.3	0.7	4.7	Контр. желтеет опыт. желтый
Неросимый 6/VIII .	1.5	5.8	0.26	—	—	—	Зеленый
10/VIII	3.0	16.9	0.18	4.4	22.5	0.19	Контр. бледнозелен. опыт. желт.
16/VIII	2.1	2.6	0.8	3.1	11.3	0.27	Контр. зел.-желтый опыт. желт.
20/VIII	2.9	4.4	0.66	2.9	2.4	1.2	Контр. бледножелт. опыт. яркожелт.
24/VIII	4.0	0.4	10.0	4.1	1.1	3.7	Контр. желтый опыт. оранж.-желт.

Эта стимуляция носит характер вспышки; дав временный подъем, активность каталазы снижается. В нормально растущих и созревающих плодах активность каталазы в центральной части значительно выше, чем в периферической. Однако и в этом случае она в своей работе обнаруживает характерный подъем, а затем падение ниже уровня активности в периферической части. Как меняется активность каталазы в периферической и центральной части плода по мере роста и созревания его, хорошо видно из сопоставления ее активности в той и другой части. Отношение активности каталазы периферической части к центральной возрастает за 2 недели с 0.36 до 10.4 в одном сорте и с 0.26 до 10.0 в другом. То же самое наблюдается в плодах при обработке их спиртом. Отношение активности меняется с 0.27 до 4.7 и с 0.19 до 3.7. По мере нормального созревания активность каталазы в центральной части падает в 10 раз в то время, как в периферической она повышается раза в два. Такое поведение каталазы в центральной части плода связано несомненно с процессом созревания семян. Бах и Опарин (5), изучая процесс созревания семян пшеницы с ферментативной стороны, нашли, что ряд ферментов, в том числе и каталаза, достигая в известный момент максимума в своей работе, к концу созре-

вания резко снижает свою активность. Спирт не только ускоряет изменение окраски, но вызывает также более быстрое наливание семян. Семена, собранные из дынь сорта Сорокодневка, обработанные спиртом, будучи высеянными на следующий год, обнаружили высокую всхожесть и хорошее развитие.

Кроме инъекции спирта в плодах огурцов, находящихся на растении, опыт был поставлен и на снятых плодах. Отобранные плоды сорта Неросимые разделены на две группы средних размеров 85—100 г и более крупных 150—200 г. Половина плодов инъецирована, вторая оставлена как контроль.

Через каждые 4 дня производился анализ. Результаты даны в табл. 15.

Таблица 15

Влияние спирта на активность каталазы в огурцах (в лежке)

Время анализа	Контроль			Опыт			Состояние плодов
	периф.	центр.	периф./центр.	периф.	центр.	периф./центр.	
Средние плоды							
4-й день	5.6	11.4	0.49	12.4	16.7	0.74	Зеленые
8-й »	3.9	10.8	0.36	11.3	14.7	0.77	Контр. зелен. опыт. желтые
12-й »	3.1	3.3	0.94	9.5	5.7	1.6	Контр. бледнозел., опыт. желтые
Крупные плоды							
1-й день	4.4	9.4					Контр. бледнозелен. опыт. желтеющ.
4-й »	4.1	14.5	0.28	16.8	20.4	0.82	Контр. бледнозелен. опыт. желтеющ.
8-й »	3.5	4.1	0.85	5.2	9	0.58	Контр. бледнозелен. опыт. желтеющ.
12-й »	3.0	1.5	2.0	7.7	8.3	0.9	Контр. бледнозелен. опыт. желтеющ.

Из таблицы видно, что в этом случае процессы те же, что и при дозревании на растении, только количественное выражение их ниже.

Сахара в процессе созревания

Для определения сахаров в процессе нормального и искусственного дозревания анализировался материал от опытов по изучению активности каталазы. Часть сока из периферической и центральной части плодов была использована для определения редуцирующих сахаров после гидролиза. Анализы проведены по методу Хэнеса.

Результаты анализов для сорта Клинский даны в табл. 16, а для Неросимый в табл. 17.

Таблица 16

Сахара в процессе созревания огурцов сорта Клинский

Время анал.	Вариант	Сахара в % свежего веса				Вес плода в г	Состояние плода
		общее колич.	редуц.	сахароза	периф. центр.		
6/VIII	периф.	1.81	—	—	—	—	см. табл. 15
	центр.	2.89	—	—	0.62	126	
10/VIII	Контр.						
	периф.	1.91	1.73	0.18	—	—	
	центр.	2.48	1.94	0.55	0.76	197	
	Опытн.						
	периф.	2.07	1.70	0.37	—	—	
	центр.	3.26	2.44	0.82	0.63	192	
16/VIII	Контр.						
	периф.	1.25	1.15	0.10	—	—	
	центр.	3.08	2.77	0.31	0.4	263	
	Опытн.						
	периф.	1.24	1.12	0.12	—	—	
	центр.	2.40	2.31	0.09	0.5	288	
21/VIII	Контр.						
	периф.	1.43	1.36	0.7	0.6	347	
	центр.	2.31	2.04	0.27	—	—	
	Опытн.						
	периф.	1.49	1.30	0.19	—	—	
	центр.	1.54	1.49	0.05	0.97	352	

Сопоставляя количество сахаров по мере созревания плодов, видно, что содержание сахаров постепенно возрастает и достигает максимума к моменту съемной спелости. Затем количество их значительно снижается как в опытных, так и в контрольных плодах. В начале созревания количество сахаров в центральной части значительно выше, чем в периферической, к моменту прекращения опыта соотношение изменилось. Для сорта Клинский отношение количества сахаров в периферической части к центральной равно 0.62, к концу опыта оно возросло для инъецированных плодов до 0.97, а для контрольных не изменилось. Для сорта Неросимые с 0.64 в начале опыта увеличилось к концу опыта для контрольных плодов до 1.1, а для опытных — 1.2. Такое изменение содержания сахаров в периферической и центральной частях плодов по мере созревания связано, несомненно, с созреванием семян.

Таблица 17

Сахара в процессе созревания огурцов сорта Неросимый

Время анализов	Вариант	Сахара в % свежего веса: общее	редуц.	саха-роза	периф. центр.	Вес плода в г	Состояние плода
6/VIII	Исходн.						
	периф.	1.65	—	—	0.64	196	См. табл. 15
	центр.	2.56	—	—	—	—	
10/VIII	Контр.						
	периф.	1.89	1.87	0.02	0.63	205	
	центр.	3.0	2.89	0.11	—	—	
	Опытн.						
	периф.	2.12	2.08	0.04	—	—	
	центр.	2.98	2.69	0.29	0.7	212	
16/VIII	Контр.						
	периф.	1.89	1.88	0.01	—	—	
	центр.	2.60	2.40	0.20	0.7	284	
	Опытн.						
	периф.	2.19	1.94	0.25	—	—	
	центр.	3.00	2.96	0.04	0.7	295	
20/VIII	Контр.						
	периф.	1.81	1.11	0.70	—	—	
	центр.	2.13	1.27	0.86	0.84	399	
	Опытн.						
	периф.	1.77	1.11	0.66	—	—	
	центр.	2.25	1.24	1.04	0.77	409	
24/VIII	Контр.						
	периф.	1.38	1.25	0.13	—	—	
	центр.	1.22	0.84	0.36	1.1	449	
	Опытн.						
	периф.	2.32	—	—	—	—	
	центр.	1.93	—	—	1.2	428	

В 1934 г. для дозревания цитрусовых и японской хурмы (6) мы пользовались раствором этилента в этиловом спирте. Так как опыты дали хороший результат, мы решили в 1935 г. воспользоваться этим способом для дозревания огурцов и дынь. Вторая половина лета в Ленинграде была очень неблагоприятной, мы не могли получить достаточного количества доброкачественных для опыта плодов, особенно дынь.

Все же проведенные над 12—15 дынями опыты дали вполне определенный результат. Опыты проводились с дыней сортов Сорокодневка и частично Прескотт (мелкие). Опыты ставились в 10-литровых эксикаторах и один раз в ящике объемом в 150 л. Раствор спирта в этилене вводился из расчета 0.7 и 1.5 см^3 на 10 л объема, а газообразный этилен 1:1 000. Опыты с этиленом были поставлены для сравнения эффективности газообразного этилена и его раствора в спирте. Через 48 час. камеры проветривались и снова заряжались.

А. Опыты с огурцами

Для опытов были взяты огурцы сорта Муромский весом от 60 до 70 г.

26/VI в четыре эксикатора помещено по 5 штук огурцов: в первый дано 0.7 см^3 препарата (раствор этилена в спирте); во второй 1.5 см^3, а в третий 10 см^3 этилена; четвертый эксикатор — с контрольными плодами. Проветривание и перезарядка производились через 48 час. Температура 20—21°. Изменение в окраске опытных плодов обнаружилось уже через 2 дня.

2/VII, через 6 дней, опытные плоды приобрели лимонно-желтую окраску. Явное преимущество обнаружили плоды, находившиеся в эксикаторе с 0.07 см^3 препарата; слабее окрашены были плоды, обработанные 1.5 см^3 препарата. Плоды, находившиеся в этилене, занимали промежуточное место. Контрольные плоды совершенно зеленые.

Уже 30/VI, через 4 дня, огурцы, обработанные препаратом, приобрели интенсивный запах дынь, особенно в эксикаторе с 0.7 см^3 препарата. Огурцы, обработанные этиленом, этого запаха не имели.

Одновременно был поставлен опыт для выяснения действия паров спирта на дозревание.

26/VI в 10-литровый эксикатор помещено 10 плодов сорта Муромский. Внесено 1 см^3 96° спирта. Через 48 час. производилось проветривание и перезарядка. Плоды обрабатывались до 16/VII 20 дней. Окраска их не изменилась, запаха дынь они не приобрели и к концу опыта стали портиться.

2/VII опыт с огурцами повторен по той же схеме, только количество плодов в каждом эксикаторе было увеличено до 10. Вес их от 65 до 75 г, окраска зеленая.

8/VII опыт прекращен. Результаты такие же, как и в опыте первом. Огурцы, обработанные препаратом из расчета 0.7 на 10 л и этиленом 1:1 000, приобрели желтую окраску с оранжевым оттенком. Плоды, обработанные препаратом из расчета 1.5 см^3 на 10 л, имели желтую окраску. Контрольные—совершенно зеленые. Дынный аромат приобрели плоды, обработанные препаратом. Обработанные этиленом огурцы аромата дынь не имели.

Дынный аромат, приобретенный огурцами при инъекции в них спирта, а также при обработке раствором этилена в спирте, безусловно,

связан с присутствием спирта, так как газообразный этилен аромата огурцам не сообщает.

Для выяснения количества спирта в огурцах после их обработки нами был произведен анализ. Результаты его даны в табл. 18.

Таблица 18

Содержание спирта в огурцах

Вариант	Вес плода в г	Количество спирта	
		в мг	%
1. Этилен	65	4.42	0.0068
2. Препарат 0.7 см³	58	174	0.301
3. Препарат 1.5 см³	59	105.9	0.281
4. Контроль	62	0.00	—

В плодах, обработанных препаратом, накопляется значительное количество спирта, повидимому, главным образом за счет его поглощения во время обработки.

Интересно отметить, что ни газообразный этилен, ни пары этилового спирта не вызывают дынного аромата у огурцов, он появляется только при их совместном действии.

Этиловый же спирт, введенный внутрь плода, ускоряет созревание и сообщает несвойственный огурцам дынный аромат.

Вероятнее всего, что этиловый спирт при образовании фруктового сложного эфира, придающего дыням их запах, входит в состав этого эфира как спиртовая группа. В кислотную группу этого эфира входит какая-то образующая кислота.

Б. Опыты с дынями

15/VIII для опытов были взяты дыни сорта Сорокодневка - 34-дневного возраста, весом от 250 до 300 г. Плоды помещены в 10-литровый эксикатор. Препарат вводился из расчета 0.7 см³ на 10 л. Через 48 час. плоды проветривались, затем эксикаторы вновь заряжались.

21/VIII, через 6 дней, опыт прекращен. Состояние плодов следующее.

В контроле — окраска зеленая, мякоть бледнозеленая, мало сладкая, аромат очень слабый.

В опыте — окраска лимонно-желтая, мякоть бледножелтая, сладкая, сильный аромат.

Чтобы решить вопрос о применении раствора этилена в спирте для дозревания дынь, необходима конечно постановка более широких опытов. Сообщаемые же здесь данные говорят только о принципиальной возможности дозревания при помощи этого препарата.

Этиловый спирт, будучи введен в плоды, находящиеся на растении, ускоряет их созревание. Его стимулирующее действие не ограничивается ускорением созревания только томатов. Сообщаемые здесь резуль-

таты говорят за то, что он достаточно эффективно действует и на тыквенные—огурцы и дыни. Цитрусовые (лимоны, мандарины, апельсины) и японская хурма также отвечают ускоренным созреванием на вводимый в них спирт.

Одинаковая реакция разнообразнейших по своему происхождению и биологическим свойствам плодов дает основание думать, что действие спирта направляется в первую очередь на те процессы, которые обусловливают нормальное созревание. Нет оснований приписывать спирту специфическое действие на созревание, так же действует с бо́льшим или меньшим эффектом ряд веществ. Из них спирт является только наименее чуждым растительному организму. Его образование и накопление в самых различных плодах обнаружено рядом исследователей (7).

Незначительные нарушения химическими и механическими способами нормального дыхания, затрудняющие доступ кислорода, вызывают значительное накопление спирта. Да и при нормальном созревании многих плодов обнаружено его образование. Наличие его здесь несомненно связано с процессом созревания.

Спирт образуется и при искусственном созревании плодов японской хурмы (8) и сливы[1] этиленом. Весьма вероятно, что он образуется и в других плодах при дозревании их при помощи этилена, хотя спирт довольно быстро перерабатывается в плодах, как показали наши опыты с томатами.

Образование спирта в плодах связано с нарушением нормального дыхания их: с наступлением частичного анаэробиоза. А так как спирт обычно образуется уже к моменту созревания плодов, то можно анаэробиозу приписывать известную роль в механизме нормального созревания. Спирт, введенный в незрелые плоды, повидимому нарушает нормальный ход дыхания, в результате чего и наступает ускоренное созревание.

Нам кажется, что для успешного изучения механизма стимуляции, нельзя ограничиваться только установлением коррелятивных связей между действующим агентом и ответом отдельных элементов сложного процесса, например повышением или понижением активности какого-либо отдельно взятого фермента.

Наряду с такой работой необходимо изучение роли частных процессов, например места анаэробного дыхания в более общем процессе созревания.

Заключение

На основании экспериментальных данных можно сделать следующие выводы.

1. При работе с плодами тыквенных физиологически более или ме-

[1] Неопубликованная работа.

нее однородный материал получается при их подборе одновременно по возрасту и размеру.

2. Плоды одного возраста наливаются неравномерно, на боковых плетях они растут быстрее, чем на главном стебле.

3. Для получения одновозрастных однородных плодов необходимо удалить с плетей точки роста, молодые листья, цветы, оставив на каждой по 1—2 завязи примерно одинакового размера и возраста.

4. Плоды, отличающиеся величиной, имеют разное осмотическое давление; быстро растущие плоды имеют пониженное осмотическое давление.

5. Осмотическое давление в растущих плодах ниже, чем в листьях во время оттока ассимилятов из последних; плоды, прекратившие свой рост, имеют такое же осмотическое давление, как и листья.

6. Разность осмотического давления между листьями и плодами является одним из факторов наливания плодов.

7. Инъекция 48% раствора спирта в дыни и огурцы ускоряет их созревание; обработанные дыни сорта Сорокодневка созревали раньше контрольных на 5—8 дней, а Прескотт — на 6—10 дней.

8. Спирт вызывает у огурцов и дынь вспышку дыхания сравнительно с контрольными плодами на 35—50%; временная вспышка дыхания сменяется падением его за уровень нормального.

9. Спирт повышает активность каталазы как в околоплоднике, так и в особенности в центральной, содержащей семена, части. Эта стимуляция носит характер временной вспышки.

10. В нормально растущих и созревающих плодах активность каталазы в центральной части значительно выше, чем в периферической; однако к моменту созревания активность каталазы в центральной части резко падает — в 10 раз, в то время как в периферической падение активности не превышает двух раз.

11. При созревании огурцов содержание сахаров в них достигает максимума к моменту съемной спелости, а затем снижается. В начале созревания количество сахаров в центральной части значительно выше, чем в периферической, к концу созревания соотношение меняется в пользу периферической части.

12. Раствор этилена в спирту вызывает ускорение созревания дынь и огурцов; последние при обработке их этим препаратом приобретают несвойственный им запах дынь. Газообразный этилен в концентрации 1:1 000 ускоряет созревание огурцов, однако не вызывает образования дынного запаха.

13. Этиловый спирт, введенный внутрь огурцов, вызывает их созревание и сообщает им запах дынь: пары спирта, действуя извне, созревания не ускоряют и запаха дыни огурцам не придают.

Институт физиологии растений СССР.
Академия Наук СССР
и Петергофский биологический институт.

ЛИТЕРАТУРА

1. Münch E., Die Stoffbewegungen in der Pflanze, 1930.
2. Гречухина О. А., Труды Ленинградского о-ва естествоиспытателей, LXIV, 2, 1935.
3. Гречухина О. А., Причины периодичности оттока ассимилятов из листа (готовится к печати).
4. Солдатенков С. и Кубли М., ДАН, I, № 2, 1934.
5. Bach A., Oparin A., Wähner R., Biochem. Z. 180, 367, 1927.
6. Солдатенков С. В., ДАН, I, No 7, 571—576, 1935.
7. Gerber M. C., Ann Sci. Nat. Bot., VIII, 4, 1896; Müller-Thurgau, Landwirt. Jahrb. Schweiz., 29, 197, 1915; Onslow a. Barker, Report fool investigation, 35, 1927; Gustafson, Plant Physiology, 4, 359—367, 1934.
8. Солдатенков С В., ДАН, II, No 3—4, 313—322, 1935.

S. V. Soldatenkov, O. A. Grečuchina, A. E. Dolžikov and G. J. Kallas.

SOME DATA ON THE RIPENING OF THE FRUIT OF GOURD FAMILY

SUMMARY

On the basis of experimental investigations of the ripening of the fruit of the family *Cucurbitaceae* the following conclusions may be drawn.

1. When working with gourds, it is possible to obtain more or less uniform material by a selection based simultaneously on age and size.

2. Gourds of one age do not develop uniformly, those on side stems grow quicker than those on the main stem.

3. To obtain uniform fruit of one age, it is necessary to remove from the stems all the growing points, young leaves and flowers, leaving on each stem only 1—2 gynoecia of approximately the same size and age.

4. Fruit distinguished by great size have increased osmotic pressure; quickly growing fruit have low osmotic pressure.

5. Osmotic pressure is lower in the growing fruit than in the leaves during the reflux of assimilates from the latter.

Fruit that have ceased growing have the same osmotic pressure as the leaves.

6. The difference in osmotic pressure is one of the factors promoting the ripening of the fruit.

7. An injection of a 48 per cent alcohol solution into melons and cucumbers hastens their ripening; treated in this way, melons of the «Sorokodnevka» variety ripened 5—8 days before the controls, while the «Prescott» melons ripened 6—10 days before the controls.

8. Alcohol produces in cucumbers and melons a 35—50 per cent increase in respiration; the temporary increase in respiration is followed by a fall below normal.

9. Alcohol stimulate the activity of the catalase both in the pericarp and especially in the central, seed containing part. This stimulation is of the nature of a temporary outburst.

10. In fruit growing and ripening normally, the activity of the cata-

lase is considerably higher in the central than in the peripheral part; by the moment of ripening, however, the activity of the catalase in the central part shows a decrease of about 10 times, while in the peripheral part the activity of the catalase does not decrease to more than a half.

11. The sugar content of cucumbers reaches its maximum at the stage of picking ripeness, and then falls. At the beginning of ripening, the sugar content in the central part is considerably higher than that in the peripheral part; towards the end of ripening a change in favour of the peripheral part is to be observed.

12. A solution of ethylene in alcohol hastens the ripening of melons and cucumbers; on being treated with this preparation, the latter acquire a melon aroma. Gaseous ethylene in a concentration of 1:1 000 hastens the ripening of cucumbers without imparting them a melon aroma.

13. Ethyl alcohol, introduced into cucumbers, causes them to ripen and imparts them a melon aroma, alcohol vapours acting from outside do not hasten the ripening of cucumbers and do impart them no melon aroma.

ИЗВЕСТИЯ АКАДЕМИИ НАУК СССР. 1936
BULLETIN DE L'ACADÉMIE DES SCIENCES DE L'URSS

Classe des sciences mathématiques et naturelles | Отделение математических и естественных наук

Б. А. РУБИН

БИОХИМИЯ ХРАНЕНИЯ ОВОЩЕЙ

Биохимические процессы, протекающие в овощах в период хранения, приводят к потере последними значительных количеств питательных веществ.

Интенсивность этих процессов связана с влиянием ряда факторов как внутреннего, так и внешнего порядка.

К числу факторов первой категории должны быть отнесены ферменты углеводного обмена, активность которых у ряда овощей оказывается исключительно высокой.

Весьма важной, повидимому, особенностью обмена у овощей является преобладание гидролиза над окислениями. Имеются основания связывать с этой особенностью слабую вообще сохраняемость овощей.

Одним из главных направлений расходования сахара при хранении является дыхание хранящихся объектов. В отношении температуры активность дыхания подчинена правилу Вант-Гоффа, в связи с чем оказывается столь мощным влияние температуры на общий ход хранения и величину потерь питательных веществ.

В статье освещены основные методы борьбы за повышение сохраняемости овощей и перечислены наиболее актуальные, с точки зрения автора, задачи научно-исследовательской работы в этой области.

Около половины всего сбора овощей по Союзу (10 — 11 млн. т) потребляется населением в течение зимнего периода, т. е. поступает осенью на хранение.

Потери овощей за время хранения вследствие загнивания и других причин (так называемый угар) исчисляются в 10%, т. е. от 1 до 1.5 млн. т. В действительности же размеры потерь являются еще более серьезными и грозными.

Дело в том, что приведенными выше цифрами охватываются лишь так называемые видимые потери, и совершенно неучтенными остаются потери питательных веществ, которые имеют место в хранящихся объектах, как следствие осуществляющихся в них биохимических процессов.

Данные специальных опытов показывают, что потери питательной ценности овощей (даже не подвергнувшихся в период хранения сколько-

нибудь заметным внешним изменениям) достигают часто больших величин. Так например, по материалам Института овощного хозяйства видно, что потери углеводов в капусте и свекле за 5 месяцев хранения составляют около $^1/_3$ исходного запаса, у моркови от $^1/_5$ до $^1/_4$ и т. д.

Размеры потерь не являются постоянными, они сильно колеблются, находясь в зависимости от целого ряда факторов. Последнее позволяет с уверенностью рассчитывать на успешность борьбы за устранение потерь и во всяком случае за максимальное их снижение.

Естественно, что борьба с потерями может строиться лишь на основе всестороннего изучения процессов, приводящих к потерям, и полного овладения ими. Освещение современного состояния вопроса о биохимических изменениях овощей в период хранения и вытекающих отсюда задач для научно-исследовательской работы и составляет тему предлагаемой статьи.

I

Процессы, совершающиеся в овощах в период хранения, могут быть разделены по своему характеру на две группы: биохимические и микробиологические. Первые должны быть отнесены к категории так называемых нормальных процессов, существование которых обусловлено тем фактом, что во все время хранения овощи остаются живыми. По существу эти процессы характеризуют жизнедеятельность двухлетнего растения, находящегося в стадии перехода от вегетативного к генеративному развитию, со свойственными этой стадии процессами мобилизации веществ и перегруппировками внутри отдельных комплексов. В случае однолетних культур речь идет главным образом о так называемом дозревании хранящихся плодов, вслед за которым начинаются процессы автолитического распада[1].

Ко второй группе мы причисляем процессы, возникающие в результате жизнедеятельности микроорганизмов, поселяющихся на овощах и развивающихся за счет отложенных в последних питательных веществ.

Процессы первой группы, как уже указывалось, обусловлены деятельностью внутренних заложенных в овощах факторов и в первую очередь ферментов.

Активность последних в большинстве овощей выражена чрезвычайно резко, что и должно рассматриваться как одна из главнейших причин крайней неустойчивости овощей при хранении.

В табл. 1 приводится характеристика ферментной активности некоторых (главнейших) овощей в сопоставлении с сахарной свеклой — объектом с точки зрения хранения прекрасно изученным.

---

[1] Процессы дозревания не могут быть исключены полностью и для двухлетних растений, но здесь они выражены гораздо менее резко.

Таблица 1

Фермент	Лук[1]	Капуста	Морковь	Свекла столовая	Свекла сахарная
Сахараза	10-12	6.8—8.5	7.5—10.3	2.5—4.0	1.0—1.5
Амилаза	2.4—2.6	41.0—48.5	7.0—7.5	0.8—1.0	0.0—0.1
Пероксидаза	2.5—5.0	3.5—4.5	13.0—15.0	—	26.5—47.1
Каталаза	12—13	15.1—16.5	45.0—50.0	12.5—14.0	4.1—6.2

Цифрами подчеркивается резко повышенная активность гидролитических ферментов овощей по сравнению с сахарной свеклой (речь идет о ферментах, управляющих углеводным распадом). Соотношения в окислительной системе носят в подавляющем большинстве случаев обратный характер.

Преобладание гидролиза над окислением представляет собой одну из наиболее характерных особенностей обмена у овощей. Этой особенностью и обусловлена повидимому столь легкая поражаемость большинства овощей микроорганизмами (см. ниже).

Одним из наиболее резко выраженных процессов, протекающих при хранении, является дыхание, в котором необходимо видеть едва ли не наиболее крупный источник потерь углеводов.

Как и большинство биохимических процессов, дыхание подчиняется правилу Вант-Гоффа, согласно которому с повышением температуры на 10° скорость процесса приблизительно удваивается.

Рядом исследований значение температуры для активности дыхательного процесса обрисовано достаточно отчетливо.

Так, в опытах Долька (Dolk, Голландия) при хранении луковиц в условиях различной температуры количества выделившейся углекислоты составляли (табл. 2):

Таблица 2

Потери (П) \ Температура °С	20	25	30	40
Выделено CO_2 в мг	10	14.8	21.3	37.4
Потери сахара в % от запаса	6.82	10.09	15.3	25.5

В этом случае имеется как бы полный параллелизм между энергией выделения углекислоты и размерами потерь углеводов.

В опытах А. Н. Белорицкой, проведенных под нашим руководством в Институте овощного хозяйства, для ряда овощей получены цифры[2], приведенные в табл. 3.

[1] Активность ферментов выражена в см³ 0.1 $KMnO_4$ на 1 г сырой навески.

[2] В этих опытах хранение осуществлялось в специальных камерах в течение двух месяцев.

Таблица 3

Наименование культур	Количество углекислоты в мг, выделившейся за 1 час на 1 кг овощей		Потери сахара в % от сырой навески за 1 день	
	+1°	+5°	+1°	+5°
Морковь Шантенэ	5.43	7.20	0.010	0.017
Свекла Бордо Грибовская	5.58	11.48	0.016	0.0563
Лук Скопинский	—	10.89	0.033	0.0520

Для сравнения интересно указать, что сахарная свекла при 8° выделяет около 12 мг CO_2; суточные потери сахара при этом составляют около 0.014%.

Из табл. 3 видно, что как энергия дыхания, так и размеры потерь, в сильной степени связаны с температурой. Однако прямой пропорции между указанными величинами нет, и интенсивностью дыхания размеры потерь сахара определяются далеко не нацело.

Так, например, при равной с морковью энергии дыхания (температура +1°) свекла имеет потери сахара на 60% более высокие, чем первая. Повышение температуры до 5° ведет к увеличению дыхания у моркови на 40%, а у свеклы — больше чем на 100%. При этом разрыв в величине потерь сахара у названных двух культур увеличивается больше, чем до 200% (0.017 и 0.056).

Сказанным подчеркивается факт, что различные растения имеют не только различную энергию дыхания и величину потерь при одних и тех же условиях, но для них характерна и различная реакция, различная степень отзывчивости на изменение внешних условий.

Второй, не менее важный вывод, который может быть сделан на основании цифр, заключается в следующем.

Если сопоставить потери сахара, вызванные дыханием, с общими потерями сахара, то оказывается, что между этими величинами имеется определенный разрыв.

Таблица 4

Наименование культур	Потери сахара на дыхание в мг		Общие потери сахара в мг		Потери на дыхание в % от общих	
	1°	5°	1°	5°	1°	5°
Морковь	88.6	117.6	100	170	89	69
Свекла	91.0	187.4	160	563	57	33
Лук	—	117.8	330	520	—	34

Величина этого разрыва характеризует интенсивность потерь сахара, которые вызываются другими процессами помимо дыхания. Из таблицы видно, что доля участия этих процессов в общей величине потерь углеводов с повышением температуры повышается.

Из табл. 4 видно так же, что различные овощи характеризуются различным направлением преимущественного расходования сахара. В частности, у моркови на дыхание тратится от 70 до 90% общих потерь сахара, тогда как у лука лишь около $^1/_3$. Интересно отметить, что у моркови мы имеем самую высокую из всех трех культур активность окислительных ферментов.

Предположение о непосредственной связи между этими двумя фактами кажется нам вполне обоснованным. Здесь необходимы детальные исследования.

Из процессов, тесно связанных с дыханием овощей, необходимо в первую очередь назвать процессы гидролитические.

Последние ограничиваются почти исключительно углеводным комплексом, азотистые же вещества овощей подвергаются во время хранения лишь ограниченным изменениям. Гидролизу подвергаются как дисахариды, так и углеводы более сложного состава. В случае капусты, например, гидролиз принимает особо глубокие формы и им затрагиваются обычно неподвижные вещества, как например, клетчатка.

Ниже мы приводим цифры, характеризующие динамику отдельных углеводов моркови при хранении (цифры взяты из работы Трупп, проведенной в Овощном институте):

Таблица 5

Дата анализа	Процент сухого вещества	Процент углеводов			Процент клетчатки
		Монозы	Биозы	Сумма	
Ноября 19	11.76	3.37	3.66	7.22	1.06
Декабря 26	10.64	3.12	3.34	6.64	1.00
Января 28	10.97	2.87	4.04	7.12	0.90
Марта 3	10.54	3.44	2.83	6.42	1.00
Апреля 13	9.96	2.83	2.74	5.71	0.90

Скорость потребления моноз (дыхание) регулирует энергию гидролиза биоз, чем и обусловлена своеобразная динамика этих двух групп углеводов. К сожалению, в этой работе остались неучтенными легко гидролизуемые полисахара (крахмал, декстрины, гемицеллюлозы), несомненно участвующие в общем ходе превращений. Во всяком случае, из таблицы видно, что общей линией превращений для углеводного комплекса является гидролиз сложных молекул с последующим потреблением образовавшихся простых соединений.

Из особенностей обмена общего порядка при хранении следует отметить ещу одну, которой, по нашему мнению, принадлежит важная роль.

Сопоставление потерь сахара и сухих веществ позволяет видеть, что равенства между этими величинами нет, что потери сухого вещества всегда ниже потерь сахара. Так, для ряда культур потери сухих веществ составляли в процентах к потерям сахара следующие величины[1] (в %):

У капусты	65
» свеклы	56
» моркови	73
» лука	84

Цифры показывают, что не все количество сахара, затрачиваемого при дыхании овощей, подвергается окислению до конечных продуктов распада. Некоторая часть углеводов остается в тканях в недоокисленном состоянии, в виде каких-то промежуточных веществ.

Относительно природы последних почти ничего неизвестно. Наиболее основательно предполагать здесь образование органических кислот, или альдегидов.

Накопление этих веществ за известными пределами может оказывать токсическое влияние на клетки овощей. С другой стороны, накоплением промежуточных продуктов следует вероятно объяснить и постоянно наблюдающееся при хранении подкисление тканей овощей, а также ухудшение их вкуса вообще.

Вся группа этих вопросов почти вовсе не затронута исследованиями.

Протекающие при хранении процессы влекут за собой, помимо изменений химического состава овощей, также и серьезные, повидимому, нарушения в физико-химическом состоянии протоплазмы. Результатом последних является резкое возрастание активности ферментов и главным образом, гидролаз. Так например, активность сахаразы в луке за период хранения в 150 дней возрастала на 1 000—1 200%; капусты — на 300—400%. Активность протеаз в столовой свекле также возрастала в 4—5 раз и т. д.[2]. Столь резкое активирование гидролитических ферментов не может не сказаться на усилении процессов распада веществ при хранении.

В отличие от гидролаз, активность ферментов, связанных с окислительным процессом, остается во время хранения почти неподвижной.

Для каталазы же, как правило, наблюдается снижение активности фермента к концу хранения, вызываемое, вероятно, подкислением тканей.

Падение активности каталазы оказывает на хранящиеся объекты несомненно отрицательное влияние.

II

Потери питательных веществ в овощах имеют место не только в период длительного зимнего хранения, но и при так называемом кратко-

---

[1] Данные Белорицкой, полученные в Институте овощного хозяйства; хранение в этих опытах длилось 5—6 месяцев.

[2] Данные Рубина и Трупп.

временном — летнем. Так, по данным Morse, Appelman'a Arthur'a, многие скоропортящиеся овощи, как спаржа, зеленая кукуруза, способны в течение 1 суток терять до 60% своего запаса сахара. Исключительно активно протекает дыхание овощей в первые моменты после уборки. Причина заключается повидимому в повреждениях, которые обычны при выкопке растений, очистке их от земли и листьев, срезке плодов и т. д.

По данным Jones'a u. Bilson'a, горох за первые 5 суток после уборки теряет при температуре 35° 12.2% сахара, считая на сухое вещество стручков, и 28.5% — в семенах.

Обширные исследования начаты в этом направлении Институтом овощного хозяйства. Ниже мы приводим несколько цифр из двухлетних опытов Рубина и Белорицкой.

Таблица 6

Наименование культур	Длительность хранения в сутках	Потери в % от первоначального запаса			
		Углеводов		Витамина С	
		6—7°	12—15°	6—7°	12—15°
Салат	6	19.6	29.4	−17.1	−33.0
	12	31.3	—	−30.9	—
Редис	3	6.2	10.0	+ 6.4	+16.1
	8	10.2	13.2	—	—
Огурцы	6	4.1	5.6	—	—
Лук-перо	6	30.9	44.0	—	− 28
	13	33.3	—	36.2	—

Из представленных в табл. 6 материалов видно, что на высоту потерь оказывают влияние два фактора: температура и длительность хранения. Оба фактора действуют в одном и том же направлении, причем сила влияния при возрастании значения увеличивается приблизительно одинаково для обоих факторов. В качестве примера можно указать, что увеличение длительности хранения салата вдвое приводит к такому же возрастанию потерь, которое вызывается и хранением при температуре вдвое более высокой.

Следует особо остановиться на цифрах, характеризующих изменения в содержании аскорбиновой кислоты (витамин С). Здесь видно, что снижение содержания этого едва ли не наиболее ценного компонента овощей протекает чрезвычайно энергично (салат, лук). Что касается редиса, то констатированное для корнеплодов увеличение количества витамина С может быть объяснено повидимому миграцией его из листьев.

Последние, согласно нашим же анализам, содержат витамина С в несколько раз больше, чем корнеплоды редиса. С этой точки зрения легко объяснить тот факт, что хранение редиса при повышенной тем-

пературе приводило не к увеличению потерь витамина С, а к повышенному его накоплению в корнеплоде. Если правильно наше предположение, что источником накопления являются запасы витамина С в листьях, то повышение температуры хранения, усиливающее подвядание листьев, а следовательно и осмотическое давление в клетках последних, должно вести к усилению миграции. Факт этот, несомненно требующий еще проверки, представляет большой интерес как практический, так и теоретический. В случае его подтверждения в будущих опытах, открывается возможность накопления витамина С в корнеплодах путем оставления на них в течение известного времени листьев. Содержание витамина С в последних обычно в несколько раз выше чем в подземных частях растений (свекла, морковь, репа). Самый же факт миграции веществ из листьев в другие части растения после уборки последнего известен и установлен уже давно для ряда случаев. Миграция эта характеризует собой один из процессов так называемого «послеуборочного дозревания» (хлеба, зерновые бобовые, сахарная свекла).

Не только углеводы и витамины С, но и многие другие компоненты состава овощей также претерпевают во время хранения значительные изменения. В частности, и при кратковременном хранении наблюдается убыль сухих веществ, происходит увеличение процента клетчатки, вызывающее огрубение и одеревенение тканей, в особенности заметное у салата.

У редиса этот процесс выражается в том, что корнеплоды становятся трухлявыми и дряблыми.

Наблюдается возрастание общей кислотности, которое, например, в одном из наших опытов с огурцами достигало за 10 дней хранения около 40%.

Мы уже отмечали выше, что наибольшим развитием процессов, приводящих к потерям, характеризуются первые послеуборочные дни, и связывали этот факт с повреждениями овощей.

При длительном хранении овощей потери также протекают далеко не равномерно.

В качестве иллюстрации приводим ниже данные по среднесуточным потерям углеводов в моркови и капусте (работа Белорицкой):

Таблица 7

Период	Морковь (в %)	Капуста (в %)
Ноябрь-декабрь	+ 0.011	— 0.05
Декабрь-январь	— 0.013	— 0.005
Январь-февраль	— 0.014	— 0.003
Февраль-март	— 0.0004	— 0.035
Март-апрель	— 0.011	—

Потери достигают наибольшей величины в первые периоды хранения; зимние месяцы характеризуются минимальными потерями и затем к весне потери вновь усиливаются, что вызывается, вероятно, начинающимся прорастанием овощей.

В связи с отмеченной выше зависимостью процессов хранения от внешних условий находится и влияние способов хранения овощей на величину потерь питательных веществ.

Работа в этом направлении, к сожалению, едва только начинает развиваться. Сюда, например, относятся такие вопросы, как выбор типа хранилища, сравнение буртового и траншейного хранения и т. д. В основе всех этих вопросов лежит влияние режима хранилища (температура, влажность, аэрация в их динамике).

Из относительно новых приемов следует упомянуть о весьма перспективном повидимому методе хранения овощей в атмосфере углекислоты.

III

Необходимо остановиться на значении внутренных факторов при хранении овощей и в первую очередь на освещении роли сорта.

Сортовые отличия по сохраняемости достигают в ряде случаев исключительных размеров.

Достаточно назвать белокочанную капусту, некоторые сорта которой прекрасно сохраняются в течение 6 и даже 7 месяцев, в то время как другие загнивают уже через 80—90 суток после уборки. Весьма значительны также различия в сохраняемости отдельных сортов лука, моркови и т. д.

Так например, Церевитинов и Черенкова в опыте по хранению четырех сортов лука нашли, что общие потери сахара колебались по сортам от 9% (Мячковский) до 14% (Русский). Потери в весе колебались от 1.5 до 6.5%. Процент загнивших луковиц от 37.9 до 65% и т. д.

В опытах Трупп потери сахара у капусты колебались в зависимости от сорта от 1.15 до 2.0%. Такого же порядка данные имеются для моркови, свеклы. В опытах Рубина и Трупп потери сахара у лука Испанский составляли 3.26%, тогда как хранившийся в тех же условиях лук Мстерский терял 5.20%.

В свете этих цифр значение сорта в хранении приобретает особую актуальность.

Однако для планомерного использования сорта в целях борьбы с потерями при хранении одного лишь констатирования сортовых различий по сохраняемости явно недостаточно. Для этого необходимо точное знание причин, обусловливающих эти различия.

С сожалением необходимо констатировать, что весь увязанный здесь комплекс вопросов остается до сих пор почти совершенно неисследованным.

Вопрос о лежкости, устойчивости при хранении несомненно чрезвычайно сложен. Лежкость может быть, во-первых, обусловлена пониженной энергией внутренних процессов распада, выражением чего могут служить пониженные потери запасных веществ.

Лежкость может быть далее связана со свойством растения сопротивляться нападению микроорганизмов, со стойкостью его против заболеваний в период хранения.

В некоторых случаях оба свойства, выраженные каждое в той или иной степени, могут быть соединены в одном и том же объекте, создавая так называемый иммунитет при хранении.

Причины, под влиянием которых некоторые сорта овощей обладают способностью сохраняться в течение длительных периодов, а другие, наоборот, быстро загнивают, одни сорта несут потери питательных веществ в 2—3 раза больше, чем другие, — причины всех этих фактов, как мы уже указывали, изучены крайне недостаточно. По этому поводу мы имеем пока лишь ряд гипотез, только более или менее обоснованных. Так, Церевитинов связывает способность плодов к сохранению с богатством сорта сухими веществами, говоря буквально следующее: «продолжительность успешного хранения находится в обратном отношении к количеству воды, содержащейся в плодах».

Archbold, работавший с яблоками, объясняет особенности в поведении сортов при хранении различиями в содержании органических кислот. Сухоруков связывает устойчивость некоторых сортов моркови к плесеням с пониженным содержанием в них биоса[1].

Согласно предварительным материалам, полученным нами в Институте овощного хозяйства, устойчивость овощей (капуста, лук) при хранении должна быть несомненно связана с внутренними признаками сорта и является повидимому особенностью обмена.

Поэтому отсутствие устойчивости или нарушения ее мы склонны рассматривать как нарушение обмена. Для капусты последнее вызывается, например, сдвигами в соотношении гидролитических и окислительных процессов, несоответствием окислительной системы мощности гидролитической.

Так например, устойчивый сорт капусты во время хранения характеризуется почти полной неподвижностью в активности гидролитических ферментов (изучались сахараза, амилаза, гемицеллюлоза), тогда как у неустойчивого сорта показатели активности последних непрерывно возрастают. На фоне все повышающейся активности гидролаз, неустойчивый сорт капусты характеризуется более низкими показателями для ряда элементов окислительной системы, что видно, хотя бы, из цифр табл. 8.

---

[1] Под содержанием биоса понимается энергия каталитического воздействия на развитие дрожжей, оказываемого веществами, содержащимися в соке моркови.

Согласно некоторым авторам, активным началом здесь является витамин А.

Таблица 8

Название сорта	Активность пероксидазы	Окислительно-восстановительный потенциал	Аскорбиновая кислота	Примечание
Амагер	44.9	31.4	37.9	Поздний, прекрасно хранящийся сорт
№ 1	23.6	27.7	32.5	Ранний сорт, к хранению непригодный

Несоответствие между гидролитической и окислительной системами у неустойчивого сорта капусты может быть усмотрено также из цифр, характеризующих потери сахара и сухих веществ.

В то время как у сорта Амагер (устойчивого при хранении) имеется полный параллелизм между указанными величинами, у сорта неустойчивого между ними наблюдается разрыв (потери сахара 0.62%, потери сухих веществ 0.26%). Этот разрыв служит указанием на то, что весьма значительная часть сахара, затрачиваемого при хранении у неустойчивого сорта, остается в тканях в виде промежуточных недоокисленных соединений.

Факт этот вызывается недостаточной мощностью окислительной системы, которую мы и склонны рассматривать как причину низкой устойчивости капусты № 1.

Прямое изучение дыхательного процесса также показало, что более энергичное выделение углекислоты в процессе дыхания свойственно устойчивому сорту (24.8, 17.4 мг CO_2). Примерно такого же порядка указания на различия в ферментной системе у сортов устойчивых и неустойчивых были получены нами для лука. Интересно указать попутно, что при изучении ферментной системы у тех же сортов в период их вегетативного развития нам удалось подметить те же особенности, которые в этом случае оказались тесно связанными со скоростью.

Таким образом, здесь открывается возможность объяснить уже давно и многократно установленные факты, что пригодность сорта к хранению находится в обратной зависимости со степенью его скороспелости.

Дальнейшая работа в этом направлении должна рассматриваться как одна из самых неотложных задач. На основе изучения устойчивости должна быть построена работа по выведению устойчивых при хранении рас овощей.

Помимо ферментной системы вполне вероятна связь между лежкостью и кислотностью сока, буферными его свойствами, биокаталитическими и литическими свойствами соков и т. д.

Все перечисленное остается еще задачей будущего.

Если, однако, в области изучения иммунитета овощей при хранении сделано еще немного, то по вопросу об условиях, в результате которых ослабляется сопротивляемость овощей, облегчается поражение овощей микроорганизмами, добыто много чрезвычайно ценных и важных фактов. Здесь прежде всего должно быть названо разрушение наружной оболочки овощей, повреждения ее, резкие смены температуры хранилища, подмораживание, подвяливание и т. д.

Устранение всех этих факторов должно несомненно повлечь за собой повышение сохраняемости и снижения потерь при хранении.

IV

Итак, борьба за улучшение хранения овощей, борьба за снижение потерь при хранении может и должна строиться в разных направлениях и осуществляться различными методами.

Чрезвычайно эффективное воздействие на скорость процессов распада может быть достигнуто путем создания соответствующего режима (температура, влажность, аэрация). Снижение температуры хранения должно рассматриваться как важнейшая задача во всех случаях. Что касается влажности и аэрации, то эти вопросы не разработаны совершенно.

Разработка их должна итти по линии изучения взаимоотношений между овощами и микроорганизмами (специфическими для данного объекта) при различных условиях влажности воздуха и содержания в нем кислорода.

Необходимо также отметить, что физиологические свойства главнейших грибков, поражающих овощи в период хранения, также почти не изучены, что несомненно является крупным недостатком.

Крайне важным должно быть признано углубленное изучение химических превращений, осуществляющихся при хранении, установление особенностей обмена и природы промежуточных продуктов, образующихся в тех или иных условиях хранения и их влияния на вкусовые достоинства овощей.

Наконец, в качестве кардинальной задачи должно быть названо углубленное изучение биохимических основ иммунитета овощей при хранении.

Результатом этой работы должен явиться селекционный отбор на пониженные потери и высокую устойчивость при хранении.

Всесоюзный институт овощного хозяйства
Лаборатория биохимии.

B. A. RUBIN. THE BIOCHEMISTRY OF THE STORAGE OF VEGETABLES

SUMMARY

The processes occurring in vegetables during their storage lead to most important changes in their composition and to a decrease in their nutritive value.

Cabbage, for example, loses about 1/3 of its carbohydrates during 5 months of storage, carrot about 1/4, etc.

One should distinguish between normal and pathological processes during storage. To the former belong the biochemical processes occurring with the cells of the plant itself, while to the latter we refer processes resulting from activity of microorganisms settling on the vegetables and developing at the expense of the nutrient substances stored in them.

The intensity of the processes of the first group depends on a number of factors. Mention should be made, in the first place, of ferments, which develop a most vigorous activity in the majority of vegetables and which appear to be one of the main causes of the extreme instability of stored vegetables.

A characteristic peculiarity of vegetables is the active hydrolytic process and the less markedly developed oxidation process.

The most important of the oxidation processes is, undoubtedly, respiration, whose intensity depends exclusively on temperature, conforming, in general, with Van't Hoff's rule.

This is why the loss of carbohydrates depends to such a great extent upon the temperature maintained during the storage of the vegetables. The absolute energy of respiration and the changes in this process due to temperature are not, however, a constant value, depending on the individual properties of the vegetables. So, for example, a rise in temperature from 1 to 5° causes a 40 per cent increase of the respiration in carrot, but more than a 100 per cent increase in beetroot.

Respiration is not the only cause of the loss of sugar during storage. The ratio of the total loss of sugar to the loss through respiration differs very considerably from vegetable to vegetable. So for example, in carrot from 70 to 90 per cent of the total loss of sugar is due to respiration, while in onion only 1/3 is due to the same cause. It is possible that the share of respiration in the total expenditure of sugar depend on the intensity of the oxidation processes in the vegetable (so, for instance, the carrot is characterized by the highest activity of oxidative enzymes as well as by highest relative losses of sugar due to respiration).

One of the important peculiarities in the metabolism of vegetables during storage consists in the disproportion between the losses of sugar

and those of dry matter. Investigations show that not all the sugar expended by the vegetables on respiration, undergoes complete oxidation into the end products of decomposition. Part of the sugar remains in the tissues of the body incompletely oxidized, in the form of some intermediate products. In this respect, great variation between the different vegetables is to be observed. We consider this peculiarity to be of very great importance, as the accumulating intermediate products appear to exert a toxic effect on the cell.

Important losses of nutrition matter occur not only during long winter storage, but also during brief summer storage (lettuce, cucumbers, radish, etc.). In the latter case, the intensity of the processes of decomposition is much greater.

One of the most important properties determining the entire course of storage and the amount of the loss involved, is undoubtedly what we call the «preservability» of vegetables, or their storage capacity. Different varieties of one and the same vegetable show enormous differences in this respect. The biochemical principles of storage capacity have not been studied as yet. According to our investigations, losses of storage capacity are due to derangement of intracellular metabolism, which in its turn seems to be caused by a disproportion between the hydrolytic and oxidation processes. From this standpoint, a vigorous oxidation system and an active oxidation process are factors which enable the plant to avoid the accumulation in its tissues of toxically acting, imcompletely oxidized compounds and, thus, to retain the power of active resistance to microorganisms.

ИЗВЕСТИЯ АКАДЕМИИ НАУК СССР. 1936
BULLETIN DE L'ACADÉMIE DES SCIENCES DE L'URSS
Classe des sciences mathématiques et naturelles
Отделение математических и естественных наук

Л. И. СЕРГЕЕВ

О СТОЙКОСТИ РАСТЕНИЙ К НИЗКИМ ТЕМПЕРАТУРАМ

(*Представлено академиком* **А. А. Рихтером**)

Сущность закаливания растений к морозу различными факторами выражается в изменении коллоидного комплекса плазмы, что по мнению автора является основным фактором морозостойкости.

Изменение морозостойкости при прохождении растениями стадий развития находится в связи с изменением стойкости плазменных коллоидов. При определении стойкости сортов к низким температурам нужно обращать внимание на стойкость растения к глубине обезвоживания, признаком изменения которого является показатель проницаемости протоплазмы. Последний может быть использован для контроля процесса закаливания и диагностики состояния озимых в поле.

Солевое закаливание имеет большие перспективы для широкого производственного использования.

I. Гидрофильность плазменных коллоидов как фактор морозостойкости растений

Существующие в физиологической литературе теории о причинах отмирания растений при низких температурах методологически несостоятельны (23) и отстали от достижений физико-химии растительной клетки (21, 22). Выхватывание отдельных процессов и абсолютизирование их, игнорирование растений, как живого объекта, реагирующего на изменения физико-химической среды, недостаточное использование данных коллоидной химии протоплазмы и т. д. составляет непременные атрибуты подавляющего большинства исследований по этому вопросу. Поэтому до сих пор нет ясности в таком чрезвычайно актуальном для селекции морозостойких форм вопросе, как причины различия в устойчивости к низким температурам сортов культурных растений.

В последней сводке по морозостойкости растений проф. Н. А. Максимов (13) не сделал попытки обобщения, которая бы определила место и взаимосвязь отдельных факторов (динамика углеводов, гидрофильные коллоиды и т. д.) в физико-химической сопротивляемости растительного организма вредному действию низких температур (ниже 0° С).

Ряд авторов (35, 31) пытались свести различие в морозостойкости к содержанию растениями водно-растворенных углеводов в закаленном

состоянии. Но еще исследования А. А. Рихтера (17) показали, что количество водно-растворимых сахаров не может быть коэфициентом морозостойкости, даже при сравнении таких близких групп растений, как озимая рожь и озимая пшеница. К такому же заключению пришел и Л. И. Говоров (3) при анализе сахаров в тканях озимого ячменя и озимой пшеницы и различных сортов последней. Анализы А. А. Рихтера установили, что степень морозостойкости культуры и сорта находит отражение в характере и интенсивности перегруппировки углеводов в связи с ходом метеорологических факторов в зимний период. Таким образом не абсолютные количества, а динамика, обусловленная изменением напряженности метеорологических факторов и биологическими особенностями сорта, является одним из факторов морозостойкости. Это заключение в равной степени может быть отнесено и к работам по значению величины осмотического давления клеточного сока, так как изменение последнего в зимнее время находится в связи с динамикой углеводов (39).

Оставался неясным физико-химический смысл защитного действия водно-растворимых сахаров, который безуспешно пытались видеть в температурной депрессии клеточного сока. Основываясь на работах коллоидников (14), можно предполагать, что механизм защитного действия сахаров при обезвоживании тканей с замерзанием сводится к взаимодействию поверхности мицелл коллоидов плазмы с раствором сахара.

Но динамика углеводов не является стержневым фактором в устойчивости растения к низким температурам. Об этом свидетельствует ряд фактов. Так, еще Гарвей (Harvey) (40) отмечал, что повышение морозостойкости растений при закаливании идет быстрее накопления в их тканях водно-растворимых углеводов. И. И. Туманов (32, 33), расчленивший закалку на две фазы, утверждает, что перегруппировка углеводов характеризует первую фазу, но наибольшая стойкость, получаемая при прохождении второй фазы, связана с некоторым обезвоживанием и происходящими благодаря этому изменениями ее коллоидных свойств. В работе по морозостойкости растений в связи со стадиями развития Тимофеева (30) показала, что увеличение содержания водно-растворимых сахаров может происходить параллельно со снижением морозостойкости. Установлено, что с прохождением стадии яровизации происходит резкое падение морозостойкости (акад. Т. Д. Лысенко и др.), хотя существенных биохимических различий в тканях яровизированных и неяровизированных растений не обнаружено (18, 5). Но не подлежит сомнению, что при яровизации происходят глубокие изменения в коллоидном комплексе плазмы, так как об этом свидетельствуют данные смещения изоэлектрической точки (18, 19) и повышение проницаемости протоплазмы (неопубликованные данные автора).

Вместе с тем имеется ряд работ американских авторов (45, 46),

указывающих на выдающуюся роль в морозостойкости растений гидрофильных коллоидов. Но динамика «связанной воды», изучением которой занимались названные авторы, дает представление не об изменениях в количестве гидрофильных коллоидов. Ньютон, принявший вначале теорию Роза о том, что увеличение «связанной воды» обусловлено накоплением пентозанов, был вынужден впоследствии признать за исследуемыми гидрофильными коллоидами белковую природу. Мы полагаем, что динамика «связанной воды» в растительной клетке скорее указывает на изменение степени гидрофильности (проф. А. В. Думанский) плазменных коллоидов. В связи с этим находят объяснение и данные об увеличении степени дисперсности белковых веществ (40, 8) и др.

Более морозостойким сортам растений вообще присуща большая степень гидрофильности плазменных коллоидов. Обезвоживанием последних при проращивании семян в концентрированных сахарных растворах Михайловича (Michailovici) (29), Конопа (Konopa) (41), Пиеску (Piescu) (47) и др. удалось показать, что по степени обезвоживания сорта различных культурных растений располагаются в ряд, параллельный их морозостойкости. Но указанные авторы не сумели дать вполне научно обоснованного объяснения вскрытым закономерностям, сведя все к различию своеобразно понимаемой «сосущей силы».

Данные Мейера (Meyer) (43), Даскалова (33) и др. о том, что на способность прорастать в сахарных растворах оказывают влияние экологические условия, при которых был получен урожай семян, не могут служить доводом к отрицанию указанного выше положения, которое сделал в своей работе Ф. Д. Сказкин (29). Не подлежит сомнению, что из семян одного и того же сорта, но полученных из урожая при неадэкватных экологических условиях, вырастут растения с различной морозостойкостью. При сравнении форм, представленных совокупностью растений, резко отличающихся своей морозостойкостью, всегда можно выделить отдельные растения, которые покажут соотношение стойкостей к морозу, обратное общему соотношению морозостойкости этих форм. Если в работах по морозостойкости различных сортов культурных растений мы, например, читаем, что озимая пшеница № 329 при -20°C сохранилась на 70%, а озимая пшеница Кооператорка лишь на 30%, то это значит, что 30% погибших растений сорта № 329 оказались менее морозостойкими, чем оставшиеся в живых 30% сорта Кооператорки. Условия созревания, а потом при посеве и условия развития и закаливания, даже на одном участке, настолько неоднородны, что различные растения одного и того же сорта дают весьма значительные расхождения. Нужно заметить, что варьирование признака морозостойкости совершенно не изучено с точки зрения генетики. Поэтому лишь при сравнении средних величин растений, выращенных при одинаковых условиях, можно говорить о генетиче-

ских различиях в морозостойкости. Метод Пиеску и др. с этой точки зрения заслуживает особого внимания, так как позволяет создать наибольшую адэкватность условий определения и оперировать с большим количеством растений (семян).

Параллелизм морозостойкости со способностью семян культур и сортов (рожь, пшеница) прорастать в концентрированных растворах была констатирована и нами при применении нейтральных солей натрия ($NaCl$, Na_2SO_4) и «уравновешенного раствора» по А. А. Рихтеру (16), Л. И. Сергееву (27, 28) и др.

Таким образом гидрофильность плазменных коллоидов является основным фактором морозостойкости растений. Способность растений— типа проса — переносить глубокое обезвоживание (23) при повышенной чувствительности их к холодам не противоречит нашему утверждению. В этом случае мы имеем пример функционального расстройства, наступающего при пониженных температурах, которое приводит к постепенному отмиранию. Просовидные и тропические растения являют собой пример нехолодостойких форм (12).

Динамика углеводов, изменения в осмотическом давлении клеточного сока и т. д. не имеют решающего значения для морозостойкости, но изменяя устойчивость плазменных коллоидов, эти факторы влияют на степень чувствительности к низким температурам.

II. Изменение проницаемости — показатель коллоидных процессов в плазме

Сорта озимых пшениц, как это следует из работ Пиеску, Сергеева (25, 28) и др., в общем отличаются от сортов яровых пшениц большей гидрофильностью плазменных коллоидов. Кульман и Голосова (9) показали, что водно-растворимые белки из эндосперма озимых пшениц также отличаются повышенной гидрофильностью по сравнению с водно-растворимыми белками из эндосперма яровых пшениц. Авторы рекомендуют использование этого признака для быстрого определения озимости или яровости неизвестного семенного материала.

Представляет большой интерес сопоставить эти данные с показателями проницаемости. Исследования М. Х. Чайлахяна (34), Л. И. Сергеева (28) показали, что озимые формы культурных злаков отличаются от яровых сниженной проницаемостью плазмы клеток.

Нарушения в коллоидном комплексе плазмы, вызываемые низкими температурами (7, 4) или химическими агентами (44, 26), которые прежде всего сводятся к изменению степени гидрофильности, или через глубокое обезвоживание, или через агрегацию мицелл, находят отражение в изменении проницаемости.

По данным Голуш (4), закаленные растения отличаются от незакаленных меньшей проницаемостью плазмы, в то же время, по работам Ньютона, Новикова и др., в них происходит увеличение «связанной воды».

Декстер (Dexter) (38) установил, что более морозостойкие сорта содержат меньше электролитов, чем менее морозостойкие, а Акифьева (27) показала, что последнее связано с различием поглощения минеральных солей.

При старении растительной клетки, по Коллинсу (Collins) (37), снижается степень гидрофильности коллоидов и увеличивается проницаемость. Этим объясняет автор повышенную чувствительность старых частей растения по сравнению с молодыми к ядовитому влиянию различных химических агентов. М. И. Салтыковский (24) неоднократно отмечал, что молодые части растений отличаются повышенной морозостойкостью.

Приведенных данных вполне достаточно, чтобы констатировать связь между проницаемостью и степенью гидрофильности (количеством «связанной воды») плазменных коллоидов в растительной клетке. «Связанная вода» (6) наряду с другими признаками характеризуется неспособностью растворять. С другой стороны, известно, что последние представления о проницаемости плазмы для минеральных солей основываются на принятии ее за ультрафильтр (49). Основываясь на этих представлениях и указанном выше свойстве «связанной воды», можно предположить, что с увеличением степени гидрофильности водных оболочек вокруг мицелл происходит уменьшение поперечников пор плазмы, а значит и снижение проницаемости.

Таким образом, изменение проницаемости связывается с изменением гидрофильности плазменных коллоидов причинноследственной зависимостью. Следовательно, по изменению проницаемости мы можем судить о динамике коллоидных процессов и прежде всего об изменении степени гидрофильности. Это дает нам теоретическое обоснование использования методов определения проницаемости для контроля процесса закаливания, диагностики состояния озимых посевов в поле и определения морозостойкости сортов после предварительной температурной закалки.

III. К управлению морозостойкостью культурных растений

На основе познанных закономерностей физиолог старается вмешаться во внутренние процессы растения с целью управления этими процессами.

Работы целого ряда авторов (см. сводки проф. Максимова 12, 13) достаточно полно вскрыли значение температурной закалки растений к морозам. В основе процесса закаливания лежит не только динамика запасных углеводов, но и частичное обезвоживание плазмы (32, 33). Последнее является завершающим этапом закаливания и обусловливает максимальную высоту устойчивости растения к морозам.

Учение о температурной закалке нашло широкое применение в ускоренных методах оценки выводимых сортов озимых культур, но не может быть использовано непосредственно в сельскохозяйственном производстве.

Эффект закаливания был получен И. И. Тумановым и при испытании морозостойкости повядших растений в сравнении с контрольными, не подвергавшимися подвяданию. Работа проф. Генкеля (2) по закаливанию и засухе открывает перспективу использования данных И. И. Туманова и для закаливания посевного материала к низким температурам, так как не всегда метеорологические условия осеннего периода могут обеспечить нормальное прохождение растениями процесса закаливания. Это особенно важно при поздних посевах.

Таким образом некоторое обезвоживание коллоидов плазмы образующимися в межклетниках тканей кристалликами льда (вторая фаза закалки) или непосредственным подсушиванием увеличивает устойчивость растения к низким температурам, как и к другим неблагоприятным влияниям (32, 15).

Закаливающее обезвоживание по всей вероятности захватывает лишь область так называемой «свободной воды» (6). Но тем не менее мы не можем свести смысл этого явления к дилемме: меньше воды — меньше образуется льда при замерзании и значит меньше коагулирующего протоплазму механически деформирующего влияния. Такая концепция не увязывается со сложным комплексом процессов, протекающих в растительных тканях при закаливании, и эффектом от закаливания. Мы склонны искать ответ на этот вопрос в изменении коллоидной структуры протоплазмы. Последние данные коллоидной химии протоплазмы говорят о плодотворных попытках экспериментального изучения физико-химии клетки с точки зрения комплексных коацерватов (22). При этом интересно отметить, что к заключению о наличии в протоплазме положительно и отрицательно заряженных коллоидов пришел и Люндегорд (Lundegårdh) (42), разработавший теорию поглощения ионов растительной клеткой.

Состояние коацервации — необходимое условие жизнедеятельности протоплазмы, означает снижение суммарной устойчивости плазменных коллоидов. При понижении температуры в протоплазме клеток озимых растений, за счет резкого снижения интенсивности ростовых процессов и подготовки к репродукции, происходит образование устойчивых коллоидных структур. Всем хорошо известно, что закаленные растения отличаются от незакаленных депрессией роста и развития. Аналогичное явление наблюдается у низших организмов и известно в биологии, как инцистирование. Проф. Э. С. Бауэр (1) считает, что изменение структуры «живой материи», в связи с переменами в окружающей среде у ряда организмов (автор указывает на низшие) является исторически сложившейся биологической приспособляемостью, которая может быть понята лишь на основе специфических законов движения «живой материи».

Частичным обезвоживанием плазмы мы склонны объяснить и защитное действие электролитов почвенного раствора или раствора, омываю-

шего замерзающую ткань. Исследования проф. Н. А. Максимова (11), проведенные со срезами эпидермиса красной капусты и традесканции (Tradescantia discolor), которые замораживались в растворах различных веществ, привели его к заключению о значении эвтектического пункта защитного раствора. Но криогидратная специфика, обусловливая пределы защитного действия того или иного раствора не объясняет самого механизма защитного действия, которое не может быть локализовано лишь на поверхности протоплазмы клеток. Против последнего говорят данные, полученные Чэндлером (Chandler) (36) и Роза (Rosa) (46), о защитном влиянии минеральных солей при введении их в субстрат, на котором выращивались подопытные растения. Опыты последних двух авторов были проведены нами (А. М. Лебедев, Л. И. Сергеев и П. Е. Потапов) на пшеницах. Для этого несколько сортов озимых и яровых пшениц выращивалось в вегетационных сосудах, почва которых (кроме контрольных) засолялась хлористым натрием, сернокислым натрием и «уравновешенным раствором» (по А. А. Рихтеру) в расчете получить различные концентрации.

Растения, разделенные на две группы, выдерживались при различных положительных температурах для выявления в условиях нашего опыта значения первой фазы температурной закалки. С наступлением кущения растения замораживались в шкафах холодильной машины. Морозостойкость растений в различных вариантах опыта определялась количеством выживших растений. Ниже приводим некоторые данные опытов по замораживанию (табл. 1 и 2).

Таблица 1

Количество живых растений в процентах от общего числа после замораживания в течение 19 час. при —12, —14° С для первых двух сортов и —10, —12° С для последующего сорта (растения прошли первую фазу температурной закалки)

Название сорта	Чем засолялась почва	Концентрация			
		0	0.05 моля	0.10 моля	0.30 моля
Оз. пшеница № 329 (морозостойкая)	Контроль	15.4	—	—	—
	NaCl	—	54.5	41.7	25.0
	Na_2SO_4	—	30.8	46.2	7.7
	Уравн. раств.	—	7.7	84.6	60.0
Оз. пшеница № 237 (средне-морозостойкая)	Контроль	23.0	—	—	—
	NaCl	—	100	61.5	40.0
	Na_2SO_4	—	58.3	53.8	16.6
	Уравн. раств.	—	33.3	61.5	40.0
Оз. пшеница «Кооператорка» (неморозостойкая)	Контроль	15.4	—	—	—
	NaCl	—	15.4	38.4	100
	Na_2SO_4	—	61.6	100	100
	Уравн. раств.	—	0	0	100

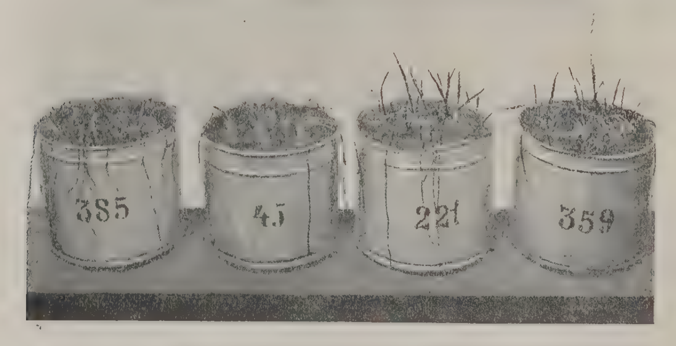
Во всех сосудах кроме сосудов, засоленных 0.30 моля хлористого натрия и «уравновешенного раствора», растения были нормально развиты и не обнаруживали заметной депрессии ростовых процессов.

Таблица 2

Количество живых растений в процентах от общего числа после замораживания в течение 10 час. при —6°, —8° С (растения не прошли и первой фазы температурной закалки)

Название сорта	Чем засолялась почва	Концентрация			
		0	0.05 моля	0.10 моля	0.30 моля
Озимая пшеница № 329	Контроль	0	—	—	—
	NaCl	—	15.4	100	71.4
	Уравн. раств.	—	15.4	100	0
Оз. пшеница «Кооператорка»	Контроль	8.3	—	—	—
	NaCl	—	100	100	100
	Уравн. раств.	—	100	100	92.3
Яровая пшеница № 62	Контроль	0	—	—	—
	NaCl	—	0	0	100
	Уравн. раств.	—	0	27.2	100

Кроме цифровых данных приводим две фотографии растений после промораживания: фиг. 1 — пшеница Кооператорка с температурной закалкой и фиг. 2 — пшеница № 329 без температурной закалки.



Фиг. 1. Озимая пшеница «Кооператорка», промороженная после температурной закалки. Сосуды: № 385 — контроль, № 45 — 0.05 моля Na_2SO_4, № 221 — 0. 10 моля Na_2SO_4 и № 359 — 0.30 моля Na_2SO_4

Полученные данные показывают, что сорта без полной температурной закалки после промораживания не располагаются в строгий ряд по степени их морозостойкости (контрольные сосуды).

Засоление почвы нейтральными солями натрия и «уравновешенным раствором» по А. А. Рихтеру, даже в концентрациях, не причиняющих в условиях почвенной культуры особого вреда росту и развитию (0.05 и 0.10 моля), повышает морозостойкость пшениц.

Максимальный эффект повышения стойкости пшениц к низким температурам мы получили в тех вариантах опыта, где растения не проходили температурной закалки. Таким образом обезвоживание солями, что было установлено определениями содержания воды в тканях подопытных растений, как бы компенсирует недостающее температурное



Фиг. 2. Озимая пшеница № 329, промороженная без температурной закалки. Сосуды: № 377 — контроль, № 73 — 0.05 моля NaCl, № 277 — 0.10 моля NaCl и № 285 — 0.30 моля NaCl

закаливание. Не включенный в первую серию опытов вариант с полной температурной закалкой (вторая фаза) по всей вероятности покажет еще большее снижение эффекта защитного действия солей, чем вариант с неполной температурной закалкой (первая фаза). Приведенные данные о защитном влиянии электролитов на растения при низких температурах не противоречат теории Горке-Шаффнита (Gorke-Schaffnit), для подтверждения которой мы приводили некоторые данные в своих работах (28). Еще работой А. А. Рихтера (16) по солеустойчивости растений было показано, что пшеница как типичный мезофит, культивируемая на засоленном субстрате, не поглощает значительных количеств солей, а увеличивает осмотические коэфициенты сосущих клеток процессами анатоноза.

Настоящие солянки типа солероса *(Salicornia herbacea)*, черпающие осмотический актив из окружающей среды, обнаруживают и большую чувствительность к низким температурам.

В докладе акад. А. А. Рихтера (20) упоминается о работах по

солевому закаливанию, проведенных В. Л. Бровцыной. Нам хочется обратить внимание селекционеров на возможность использования этого метода для отбора морозостойких форм из популяций и гибридных поколений. Отбирая зерновки, проросшие в больших концентрациях солей (до 0.7 моля), селекционер может вычленить наиболее морозостойкие группы без предварительного испытания в поле или шкафах холодильной машины. Так поступал в своих опытах цитированный нами выше Пиеску (47), проращивая семена в сахарных растворах.

Заключение

В результате критического обзора целого ряда работ по морозостойкости и проведенных нами экспериментальных исследований по проращиванию семян различных сортов культурных злаков в солевых растворах, мы считаем физико-химическую стойкость плазменных коллоидов за основной фактор морозостойкости. Значение динамики запасных углеводов, изменения концентрации клеточного сока и т. д. может быть правильно понято лишь при анализе взаимоотношения этих процессов с динамикой коллоидных явлений в плазме.

Сущность закаливания растений к морозу, которое может быть получено воздействием ряда факторов (низкие температуры, подсушивание, засоление почвы), выражается в изменении коллоидного комплекса плазмы и может быть понята лишь с точки зрения общебиологических законов движения «живой материи» (Бауэр) (1).

Изменение морозостойкости при прохождении растениями (пшеница, рожь) стадий развития также находится в связи с изменением стойкости плазменных коллоидов. Поэтому при определении стойкости сортов к низким температурам, с учетом специфики их стадийного развития, следует прежде всего обращать внимание на стойкость растения к глубокому обезвоживанию и на изменение в проницаемости.

Проращивание семян на сахарных (Piescu) (47) и солевых растворах (25, 28) может быть рекомендовано в качестве метода, позволяющего выявить физиологическую стойкость сортов, не только генотипического порядка (семена из урожая при одинаковых почвенно-метеорологических условиях), но и варьирование этого признака в результате модификации от влияния различных экологических условий. Надежным признаком изменения гидрофильности плазменных коллоидов является показатель проницаемости, что может быть использовано для контроля процесса закаливания и диагностики состояния озимых в поле.

Солевое закаливание имеет большие перспективы для широкого использования в производственной обстановке.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бауэр Э. С., Теоретическая биология, 1935.
2. Генкель П. А., Изв. Биол. н.-и. ин-та, т. IX, вып. 9—10, 1935.
3. Говоров Л. И., Тр. прикл. бот. ген. и селекц., т. 13, вып. 1, 1932.
4. Голуш Б. М., ДАН, т. II, № 3—4, 1935.
5. Демковский П. И., Бюл. Яр., № 2—3, 1932.
6. Думанский А. В., Изв. Гос. н.-и. ин-та кол. хим., вып. 2, 1934.
7. Иванов С. М., Соц. растениеводство, № 7, 1933.
8. Клинг Е. Г., Ж. Оп. агр. Ю.-В., т. IX, вып. 1, 1931.
9. Кульман А. Г. и Голосова О. Н., Семеноводство, № 5, 1935.
10. Лебедев А. М., Сергеев Л. И. и Потапов П. Е., Повышение морозостойкости пшениц внесением нейтральных солей в почву (печатается).
11. Максимов Н. А., Ж. оп. агр., т. XIII, 1912.
12. Максимов Н. А., Изв. лесн. ин-та, т. XXV, 1913.
13. Максимов Н. А., Тр. прикл. бот., ген. и селекц., т. XXII, вып. 1, 1929
14. Маркевич Н. Т., Изв. н.-и. ин-та кол. хим., вып. 1, 1934.
15. Новиков В. А., Ж. оп. агр. Ю.-В., т. VI, вып. 1, 1928.
16. Рихтер А. А. Ж. оп. агр. Ю.-В., т. III, вып. 2, 1926.
17. Рихтер А. А., Ж. оп. агр. Ю.-В., т. IV, вып. 1—2, 1927.
18. Рихтер А. А., Ранцан В. и Пеккер М., ДАН, № 2, 1933.
19. Рихтер А. А., Природа, № 2, 1934.
20. Рихтер А. А., Вестник АН СССР, № 1, 1935.
21. Рубинштейн Д. Л., Физико-химические основы биологии, 1932.
22. Рубинштейн Д. Л., Сб. «Проблема белка», 1934.
23. Сакс А. и Бородина J. М., Асновы фізіялогіі зімастойкасці азімага збожжа, Менск, 1934.
24. Салтыковский М. И., Ж. оп. агр. Ю.-В., т. VII, вып. 2, 1929.
25. Сергеев Л. И., ДАН, т. I, № 7—8, 1935.
26. Сергеев Л. И., Влияние различных концентраций $KClO_3$ на прорастание семян и взрослые сорные растения (печатается).
27. Сергеев Л. И., Лебедев А. М. и Акифьева А. А., Корреляция морозостойкости со стойкостью к почвенному засолению (печатается).
28. Сергеев Л. И. и Лебедев А. М., К теории физиологической стойкости культурных злаков (печатается).
29. Сказкин Ф. Д., Соц. растениеводство, № 12, 1934.
30. Тимофеева М. Т., ДАН, т. I, № 1, 1935.
31. Товарницкий В. И., Сб. ССУ, № 1, 1927.
32. Туманов И. И., Журн. прикл. бот., ген. и селекции, т. XXV, вып. 3, 1931
33. Туманов И. И., Сб. «Научн. осн. селекции», т. I, 1935.
34. Чайлахян М. Х., ДАН, т. II, № 2, 1935.
35. Akerman A., Z. S f. Pflanzenzücht, I, 1927.
36. Chandler W. U., Mo. Agr. Exp. Sta, Res. Bull., 8, 1913.
37. Collins W. A., Protoplasma, XII, H. 4, 1931.
38. Dexter, Plant Physiol., v. 9, 1934.
39. Fuchs W H., Planta, 23, H. 3, 1935.
40. Harvey R. B., Journ. of Agric. Res., 15, 1918.
41. Konopa, Forts. d. Landwirts., H. 21, 1930.
42. Lundegårdh H. D., Naturwiss., H. 20, 1935.
43. Meyer, Pflanzenbau, 6, 1929.
44. Neuwirth F., Z. S Zuckerindus. Cechoslowak, 51, 1927.
45. Newton R., Journ. of Agr. Sci., 14, 1924.
46. Rosa J. T., Miss. Agr. Exp. Sta., Res. Bull., 48, 1921.
47. Piescu And., Forst. d. Landwirts., 1931.

L. I. SERGEEV. ON THE RESISTANCE OF PLANTS TO LOW TEMPERATURES

SUMMARY

As a result of a critical survey of a considerable number of works on frost resistance and of experimental investigations we have carried out with seeds of various kinds of cereals, we believe the physico-chemical stability of plasmic colloids to be the basic factor in frost resistance. The significance of the dynamics of reserve carbohydrates, changes in the concentration of cell sap, and the like, can be understood correctly only through an analysis of the inter-relation of these processes with the dynamics of colloid phenomena on the plasm.

The essence of the hardening of plants against frost, which can be brought about by the action of a number of factors (low temperatures, drying, salting of the soil) consists in changes of the colloidal complex of the plasm and may be understood only from the point of view of the general biological laws of the movement of «living matter».

Changes in frost resistance during different developmental stages is likewise found to be correlated with changes in the stability of plasmic colloids. Consequently, in determining the resistance of varieties to low temperatures, it is necessary above all to devote attention to the resistance of the plants to severe drought and to changes in permeability.

Sprouting of seeds in sugar and salt solutions can be recommended as a method of ascertaining the physiological stability of varieties not only from the genotypical aspect (seeds of a crop grown under identical soil and weather conditions), but also of variations in this character as a result of modifications due to the influence of ecological conditions. The index of permeability is a reliable indication of a change in the hydrophilism of the plasmic colloids and may be used for controlling the process of hardening and for diagnosis of the conditions of winter crops in the field.

Hardening against soil salinity has a wide perspective for use in practical cropping.

ИЗВЕСТИЯ АКАДЕМИИ НАУК СССР. 1936
BULLETIN DE L'ACADÉMIE DES SCIENCES DE L'URSS

Classe des sciences mathématiques et naturelles

Отделение математических и естественных наук

В. Н. НАУГОЛЬНЫХ

О ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ И МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЯХ ПРЕДПОСЕВНО-ЗАКАЛЕННОГО ОВСА

(*Представлено академиком* **А. А. Рихтером**)

В результате произведенных автором опытов и исследований сделаны следующие выводы: при закаливании растений по методу Генкеля всхожесть семян овса незначительно снижается, однако они дают больший, по сравнению с контрольными, урожай как в засуху, так и без нее. Степень засухоустойчивости, приобретаемая при закаливании, зависит от сортовых и видовых особенностей растения; при засолении почвы закаленные растения снижают транспирацию сильнее контрольных в дневные часы.

Предпосевно-закаленные растения содержат больше связанной воды, имеют большую длину листьев, причем последние приобретают ксероморфную структуру.

В ряде работ кафедры физиологии растений Пермского университета (2, 3, 4, 5, 12), посвященных экспериментальному повышению засухоустойчивости пшеницы и овса, достаточно убедительно выявляется значение предпосевного закаливания растений, проводимого путем повторного намачивания и высушивания семян.

Весьма вероятно, что, проводя закаливание различных растений, мы получим неоднородные результаты; так, на основании уже имеющихся данных можно отметить, что сорта овса меньше повышают засухоустойчивость, чем сорта пшеницы. Кроме того, при сравнительном сортоиспытании одного вида растений также можно встретить различно реагирующие биологические типы (17); так например, *Miltrum* 0321 реагирует больше, чем *Caesium* 0111, но это обстоятельство нисколько не умаляет значения предпосевного закаливания и не уменьшает перспектив, открываемых этим методом.

Кроме большого практического значения этого агроприема чрезвычайный интерес представляют те физиологические изменения, которые наступают в растениях при данной обработке семян. Известно, что яровизованные растения даже на самых ранних стадиях развития отличаются от контрольных целым рядом физиологических особенностей, хотя бы по изоэлектрической точке, энергии дыхания, активности каталазы и т. д. (13, 18, 14) и др.

Имея это в виду, мы в праве были ожидать, что и закаленные растения будут физиологически отличаться от контроля. Вследствие этого мы остановились кроме определения у закаленных растений содержания воды в засуху и водного дефицита, достаточно полно освещенных в вышеперечисленных работах, на следующих моментах:

1) определении связанной воды,
2) определении транспирации,
3) измерении длины листьев,
4) изменении в приросте растений,
5) изучении анатомических особенностей закаленных растений.

В качестве материала для опыта был взят овес Золотой дождь. Закаливание растений проводилось после трехкратного намачивания и наклевывания семян при их подсушивании до первоначального веса. Вода давалась за один раз в количестве 30% от воздушно-сухого веса семян. Растения выращивались в стеклянных сосудах на 4 кг почвы при влажности в 50% от полной влагоемкости (почва была привезена с поля за 7 км от города, темноцветная слабоподзолистая. Полная влагоемкость ее равна 73% (от сухого веса почвы).

Проведенные нами попутно наблюдения по влиянию закаливания на всхожесть семян показали незначительное снижение всхожести, если контрольные в среднем дали 95%, то закаленные 90%.

В течение вегетационного периода часть растений была пущена в засуху: одна серия в фазе выхода в трубку (при восьмикратной повторности), другая — в фазе колошения (при четырехкратной повторности).

Но, к сожалению, сочетание метеорологических факторов лета 1935 г. в условиях Перми было крайне неподходящим для создания засухи. Лето было исключительно дождливым и холодным, и если мы могли создать почвенную засуху, то растения все время находились во влажной атмосфере в течение VI и VII мес. и только во второй половине августа несколько установилась сухая и ясная погода. Вследствие этого, чтобы создать почвенную засуху, нам приходилось долгое время оставлять растения без полива: первую серию с 8/VII — 5/VIII и вторую серию с 22/VII—3/VIII.

Влажность почвы в засуху была доведена в первой серии в среднем до 18.5% от полной влагоемкости, во второй серии до 27%, потому что уже при этой влажности наблюдалось сильное увядание и пожелтение листьев, большее, чем в первой серии при меньшем содержании воды в почве. Повидимому, здесь мы имеем дело с критическим периодом в жизни растения (8).

Определения водного дефицита и содержания воды в листьях во время засухи не дали нам разницы между закаленными и контрольными растениями. Данные приведены в табл. 1.

Таблица 1

Растения	Засуха в фазе выхода в трубку		Засуха в фазе колошения	
	дефицит	содержание воды	дефицит	содержание воды
Закаленные	65.8	55.4	52.9	61.1
	(сред. из 16 опред.)		(сред. из 11 опред.)	
Контрольные	65.2	54.9	50.2	62.2
	(сред. из 11 опред.)		(сред. из 11 опред.)	

Для опыта брались всегда листья вторые сверху.

Отсутствие разницы, идущее в разрез с данными П. А. Генкеля и Колотовой, П. А. Генкеля и Никитина, объясняется, повидимому, с одной стороны, метеорологическими условиями, именно отсутствием атмосферной засухи и, с другой стороны, меньшей засухоустойчивостью овса, для которого засуха оказалась слишком резка и содержание воды в листьях упало до 55—60%, в то время, как у П. А. Генкеля и Колотовой для пшениц содержание воды в засуху (даже при 8% содержании воды в почве, но, правда, с другим коэффициентом завядания — оставалось 65—76%.

В работе П. А. Генкеля и Никитина с овсом Победа содержание воды в листьях в засуху оставалось равным 75—90%.

Во многих работах, посвященных засухоустойчивости и морозостойкости растений (18, 16, 9, 11), отмечено значение количества «связанной» воды при обезвоживании растений. Именно, в громадном большинстве случаев стойкость растения при потере воды (при высыхании и при замораживании) возрастает параллельно повышающемуся количеству связанной воды.

Закаливание растений как к засухе, так и к морозу показало в опытах Туманова и Роза повышенное содержание связанной воды по сравнению с контролем. Таким образом, несмотря на условность понятия «связанной воды», эти определения, как дающие представления о количественных соотношениях гидрофильных коллоидов в клетке, имеют несомненный интерес. Наши определения показали, что по количеству связанной воды в засуху закаленные растения резко отличаются от контрольных. Определения велись дилатометрическим методом Буйокоса, подробно изложенным в работе Лебединцевой (9) при температуре — 1°. Для опыта брался 2-й сверху лист из нескольких сосудов, чтобы общая навеска была около 1—5 г. Результаты приведены в табл. 2.

В то время, как закалка дала в засуху 57.6% связанной воды от общего запаса воды, равного 57% на сырой вес, в контроле только 35.7% связанной воды при общем содержании, равном 53% на живой

Таблица 2

Обработка	Сырой вес в г	Сухой вес в г	Содержание воды	Количество связан. воды	% связ. воды от общего запаса воды	% связ. воды на сырой вес пробы	% связ. воды на сухой вес пробы	Содержание воды в % на сухой вес	Содержание воды в % на сырой вес
Закалка в засухе	1.4837	0.6418	0.8419	0.4847	57.55	33	75	131	57
Контроль в засуху	1.1486	0.535	0.6136	0.2188	35.67	19	41	115	53

вес растений. Следовательно, при очень близком общем запасе воды в растении форма воды резко различна, и большее количество гидрофильных коллоидов в клетках листьев закаленных растений обусловливает большую жизнестойкость их в засуху.

Необходимо оговориться, что вследствие ограниченного количества материала, имевшегося у нас, определения связанной воды, проведенные в далеко недостаточном количестве, являются только ориентировочными.

Изучение транспирации велось хлор-кобальтовым методом Ливингстона с изменениями Ничипоровича (10). Нам пришлось убедиться в том, что если эта методика является достаточно чувствительной и удобной в условиях Юго-Востока (при наличии сухой атмосферы), то в наших условиях пользоваться ею очень трудно, и выбор методики был продиктован исключительно необходимостью сохранить растения неповрежденными для учета урожая. Все-таки некоторые полученные нами данные, приведенные в табл. 3, мы считаем возможным использовать.

Таблица 3

Дата	Время наблюдения	Температ. °C	Опытные растения	Быстрота порозовения хлор-кобальт. бумаги в сек.	Местоположение листа	Фаза колошения
13/VIII	2 часа	26.5	Контроль	35.35	Верхний лист	Среднее из 4 отсчетов
			Закалка	34.6		
13/VIII	2 часа	26.5	Контроль	34.76	2-й лист сверху	5 отсчетов
			Закалка	36.00		3 »
13/VIII	2 ч. 30 м.	30	Контроль	35.94		5 »
			Закалка	41.10		4 »
19/VIII	11 час.	31.5	Контроль	23.07		3 »
			Закалка	25.12		5 »

Из табл. 3 видно, что при одинаковых оптимальных условиях водоснабжения транспирация закаленных и контрольных растений почти равна с небольшими колебаниями в ту или другую сторону.

Иную картину мы получили при определении транспирации закаленных и контрольных растений, которые подвергались засолению раствором вант-Гоффа (vant Hoff'a) таким образом, что количество солей в почве вегетационного сосуда доводилось до определенной концентрации, выражаемой в долях полного раствора вант-Гоффа. Правда, данные, полученные в этом случае, не дают нам возможности вывести заключения о влиянии на опытные растения только одного условия, наиболее интересного для нас в данный момент, именно — физиологической сухости почвы, но неминуемо приходится считаться и с фактором проницаемости плазмы и вследствие этого с проникновением и накоплением солей, что резко различно у закаленных и контрольных растений [согласно данным Колотовой (7) и Володина (1)] и что сильно отразится и на интенсивности транспирации. Данные опыта приведены в табл. 4.

Таблица 4

Дата	Время наблюдения	Температура °C	Местоположение листа	Засоление	Быстрота		Фаза развития
					контроль	закалка	
15/VIII	10 ч. 30 м.	30	2-й сверху . .	0.0	60.83	54.46	Почки
				0.2	61.20	72.4	
15/VIII	2 ч. 45 м.	31.5	2-й » . .	0.0	74.07	78	
				0.2	52.70	78.6	
16/VIII	11 час.	29.5	Верхний лист	0.0	37.32	32.8	Цветение
				0.2	70.33	49.73	
16/VIII	2 часа	32.5	» » .	0.0	40.75	47.7	
				0.2	84.63	105.3	

Здесь отчетливо видно, что если транспирация закаленных и контрольных растений в условиях благоприятного увлажнения (в сосудах без засоления) опять почти равна, то в условиях затрудненного водоснабжения (при одинаковом засолении почвы, равном 0.2 от полного раствора вант-Гоффа) закаленные растения значительнее контроля снижают транспирацию по сравнению с незасоленными экземплярами.

Как видно из этой таблицы, верхний лист закаленных растений на засолении в 0.2 16/VIII в утренние часы транспирирует значительно сильнее контроля, но по мере повышения метеорологических факторов к 2 час. дня наблюдается транспирация значительно менее интенсивная, чем у аналогичных листьев контрольных растений. Едва ли эти данные можно с исчерпывающей полнотой объяснить только особенностями проницаемости плазмы, нам кажется, здесь может проявляться и боль-

шая пластичность закаленных растений, выражающаяся в большей регуляторной способности.

Интересно было физиологические особенности закаленных растений рассмотреть на фоне анатомических данных; с этой целью по нашей просьбе дипломантом Скороходовой были сделаны зарисовки, выявляющие структуру листьев закаленных и контрольных растений.

Анализ анатомического строения листьев опытных растений был проведен в следующих направлениях:

1) подсчет количества устьиц в поле зрения микроскопа;

2) измерения размеров клеток, эпидермальных и устьичных в делениях окулярного микрометра;

3) определение степени жилкования листьев в поле зрения микроскопа.

Для исследования 20/VIII были взяты листья вторичных побегов, которые в большом количестве появились после прекращения засухи в 1-й серии опытных растений. Листья после срезывания выдерживались в воде до полного насыщения, затем делались срезы с нижней стороны листа, которые просветлялись в молочной кислоте. Результаты представлены в табл. 5.

Таблица 5

Растения	Количество устьиц	Размеры клеток в делениях окулярного микрометра			Длина жилок в см
		эпидермис мал. увел.	устьиц бол. увел.	мезофилла бол. увел.	
Закаленные растения . .	138	42.72 (29 изм.)	20.5 (16 изм.)	7.4 (36 изм.)	62.3
Контрольные	119	67.75 (12 изм.)	22.4 (15 изм.)	8.4 (47 изм.)	58.7

Листья закаленных растений определенно обладают, хотя и не резко выраженной, ксероморфной структурой: по количеству устьиц, размерам клеток и по жилкованию листа. Необходимо отметить, что согласно данным Скороходовой (15), специально занимавшейся этим вопросом прошедшим летом (работа печатается), ксероморфизм, получающийся при закаливании растений, опять значительно сильнее выражен у пшеницы, чем у овса.

Ксероморфная структура закаленных растений является следствием физиологической перестройки организма и вполне совпадает с большей засухоустойчивостью предпосевно-закаленных растений сравнительно с контролем. Таким образом, изучение анатомических особенностей дало нам интересные результаты, расширяющие наше представление о природе закаленных растений.

Может быть еще более показательными являются измерения длины листьев и общего роста растений. Длина листьев приведена в табл. 6.

Таблица 6

Дата	Местоположение листа	Длина листьев без засухи		Длина листьев с засухой		Длительность засухи и фаза
		закалка	контроль	закалка	контроль	
23/VIII	Верхние листья (они уже пожелтели)	20.04 (23 опр.)	14.7 (25 опр.)	18.13 (27 опр.)	14.73 (30 опр.)	Засуха с 22/VII — 3/VIII в фазе колошения

Листья закаленных растений длиннее листьев контроля и в случае, если в период вегетации давалась засуха и в случае роста при достаточном водоснабжении: 20 и 14; 18 и 14 см. Надо думать, что отсутствие разницы в длине листьев контрольных растений с засухой и без засухи (14 и 14) получалось потому, что рост их был закончен к периоду засухи, а листья закаленных растений продолжали расти (хотя и немного).

Что в закаленных растениях идут процессы роста и во время засухи, следует из табл. 7, где приведена общая длина растений в разные периоды. Здесь не безинтересно отметить, что во время засухи, которая продолжалась с 22/VII—3/VIII, контрольные растения почти не дали прироста: 73.5—73.92 см, а закаленные дали прирост, равный 1.82 см (с 74.5 до 76.32 см). Без засухи у контроля прирост на 4.14 см, у закаленных за тот же промежуток времени 4.9 см. Следовательно, рост закаленных растений в период засухи сокращается, но не прекращается.

Таблица 7

Обработка	8/VII	22/VII	4/VIII		Продолжительность засухи
	без засухи	без засухи	без засухи	с засухой	
Контроль	49.65 (96 опр.)	73.5 (65 опр.)	77.64 (27 опр.)	73.92 (31 опр.)	Засуха с 22/VII по 3/VIII
Закалка	49.08 (93 опр.)	74.5 (59 опр.)	79.4 (26 опр.)	76.32 (30 опр.)	

Определения урожая приведены в табл. 8 (на 1 растение).

Таблица 8

Обработка	Урожай зерна		Урожай соломы
	в г	в %	
Закалка без засухи	0.905	121	0.89
» с засухой	0.70	111	0.88
Контроль без засухи	0.75	100	0.83
» с засухой	0.63	100	0.81

Мы не видим здесь разницы в накоплении соломы, но по зерну закалка в обоих случаях и с засухой и без засухи дает повышенные урожаи. Повышение урожая закаленных растений, вегетировавших без засухи, равно 21%—близко к данным П. А. Генкеля и Никитина, где прибыль урожая равна 24%. При недостатке воды в нашем опыте получилось значительно меньше повышения урожая (11%), чем в работе вышеназванных авторов, и с овсом и особенно с пшеницей, но это объясняется более сильной засухой и сортовыми отличиями, так как испытывались разные сорта овса (Победа и Золотой дождь). Кроме того следует особенно подчеркнуть, что овес, будучи менее засухоустойчив, никогда не дает такого повышения урожая, как пшеница (*Milturum* 0321).

Подводя итоги всему вышеизложенному, мы должны отметить, что в процессе закаливания получается коренная физиологическая и анатомическая перестройка растительного организма, благодаря чему закаленные растения делаются несомненно более засухоустойчивыми. На это указывают и определения связанной воды и другие данные, полученные как в наших опытах, так и в работах других авторов. Но большая или меньшая степень засухоустойчивости, приобретаемая при этом, будет зависеть от видовых и сортовых особенностей испытуемого растения.

Вполне вероятно, что полученные нами данные являются до некоторой степени сглаженными вследствие отмеченных метеорологических условий лета 1935 г. При наличии же атмосферной засухи значение физиологической перестройки организма выступит более рельефно.

Приведенные опыты позволяют сделать следующие выводы:

1. При закаливании растений по методу Генкеля всхожесть семян овса понижается незначительно (5%).

2. Предпосевно-закаленные растения содержат больше связанной воды по сравнению с контролем.

3. При засолении почвы закаленные растения снижают транспирацию сильнее контрольных в дневные часы.

4. Закаленные растения имеют большую длину листьев как в засуху, так и без засухи.

5. При закаливании листья растений приобретают ксероморфную структуру.

6. Закаленные растения дают больший урожай и в засуху и без засухи.

7. Степень засухоустойчивости, приобретаемая при закаливании, зависит от сортовых и видовых особенностей растения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Володин А. Н., Солеустойчивость предпосевно-закаленных растений, Рукопись.
2. Генкель П. А., Изв. Перм. биол. н.-иссл. ин-та, т. IX, вып. 9—10, 1935.
3. Генкель П. А. и Колотова С. С., Изв. Перм. биол. н.-иссл. ин-та, т. IX, вып. 1—3, 1934.
4. Генкель П. А. и Никитин П. С., Изв. Перм. биол. н.-иссл. ин-та, т. IX, вып. 9—10, 1935.
5. Генкель П. А., Пролетарский К. В., Калмыков К. Ф., Кобылин А. А., там же.
6. Демковский П. М., Бюлл. яровизации, 2—3, 1932.
7. Колотова С. С., Изучение осмотических соотношений у предпосевно-закаленных растений, Рукопись.
8. Кузьменко А. А., Воробьев, Биологические основы орошения полевых культур, 1935.
9. Лебединцева Ю. В., Тр. по прикл. бот., ген. сел., т. XXIII, вып. 2, 1929—1930.
10. Ничипорович А. А., Журн. оп. агр. Ю.-В., т. III, вып. 2, 1926.
11. Новиков В. А., Журн. оп. агр., Ю.-В., 6, 1928.
12. Пролетарский К. В., Испытание засухоустойчивости предпосевно-закаленных к засухе пшениц в засушнике.
13. Рихтер А. А., Природа, 2, 1934.
14. Савостин П. В. и Окунцов М. М., Тр. Томск. гос. ун-та, т. LXXXVI, 1934.
15. Скороходова Г. Ф., Ксероморфизм у предпосевно-закаленных растений, Рукопись.
16. Туманов И. И., Тр. по прикл. бот., ген. и сел., XVI, вып. 4, 1926.
17. Удольская Н. Л., ДАН, 9, 1934.
18. Rosa J. T., Miss. Agr. Exp. Sta, Res. Bull., 48, 1921.

Y. N. NAUGOLNYCH. ON PHYSIOLOGICAL AND MORPHOLOGICAL PECULIARITIES OF PREHARDENED OATS

SUMMARY

On the basis of his experiments and investigations of the effect of pre-hardening of oats, the author has come to the following conclusions.

1. With Henckel's method of hardening, the percentage of sprouting slightly decreases (5%).

2. Pre-hardened plants contain more combined water than the controls.

3. In the case of a saline soil, the transpiration of the plants decreases more than that of the controls.

4. Hardened plants have longer leaves both in case of drought and in its absence.

5. On hardening the leaves of plants assume a xeromorphous structure.

6. Hardened plants produce a greater yield both with drought and without it.

7. The degree of drought resistance produced by hardening depends upon racial and specific peculiarities of the plants.

ИЗВЕСТИЯ АКАДЕМИИ НАУК СССР. 1936
BULLETIN DE L'ACADÉMIE DES SCIENCES DE L'URSS

Classe des sciences mathématiques et naturelles

Отделение математических и естественных наук

Ю. М. ОЛЕНОВ

ИЗМЕНЧИВОСТЬ NADSONIOMYCES SPHENOIDEUS KUDR И ВЛИЯНИЕ НА НЕЕ ЭМАНАЦИИ РАДИЯ

(*Представлено академиком* **Г. А. Надсоном**)

В статье содержится описание опытов, имевших целью выяснить особенности процесса расообразования у дрожжевого грибка *Nadsoniomyces sphenoideus*, выделенного В. И. Кудрявцевым с поверхности морских водорослей *Laminaria japonica*. «Спонтанное» появление сальтантов было констатировано во всех старых колониях, развивавшихся на сусло-агаре; в колониях образуются кратеры, содержащие наследственно измененные клетки. Время появления кратеров зависит от возраста посевного материала. Декстроза, галактоза, мальтоза, сахароза и маннит не влияют на свойства посевного материала. На водорослевом агаре кратеры не образуются.

Воздействие эманации радия на развивающиеся колонии резко понижает процент колоний, содержащих кратеры. В работе указаны возможные объяснения этого факта. Из них более вероятным представляется следующее: появление сальтантов в колонии *N. sphenoideus* вызывается аутоинтоксикацией и эманацией радия, задерживая развитие колоний (причем продукты обмена веществ накопляются медленнее), вызывает понижение процентов колоний, содержащих кратеры.

Результаты воздействия лучистой энергии на наследственную структуру организма оказываются различными для разных видов, иногда даже сравнительно близких друг к другу по своему систематическому положению. Stadler (11) показал, что количество мутаций, обнаруживаемых после рентгенизации, значительно меньше у мягких 42-хромосомных пшениц, чем у 28-хромосомных твердых пшениц. Данные, полученные Надсоном и рядом его сотрудников (5, 6, 7, 8, 9), свидетельствуют о том, что наряду с дрожжевыми грибками, образующими довольно легко и обильно новые расы под влиянием рентгеновых лучей или эманации радия (*Sporobolomyces roseus*, *Nadsonia fulvescens*, *Saccharomyces cerevisiae*), имеются также виды, высоко устойчивые к расообразующему действию лучистой энергии (*Schizosaccharomyces octosporus*, *Saccharomycodes Ludwigii Zygosaccharomyces mandshuricus*).

Аналогичные (хотя, быть может, иным образом причинно обусловленные) различия наблюдаются также и в частоте мутаций разных генов у одного и того же объекта под влиянием лучистой энергии (10).

Трудиее, конечно, сравнивать частоту «спонтанных» наследственных

изменений у одного и того же вида и у разных видов. Однако и в этой области налицо ряд твердо установленных фактов. В частности заслуживает внимания несколько особняком стоящая группа так называемых «часто мутирующих» генов [о них см. например (1, 2)] у кукурузы и *Drosophila virilis*.

Избранный нами в данном исследовании объект — дрожжевой грибок *Nadsoniomyces sphenoideus* по частоте «спонтанных» наследственных изменений некоторых своих свойств приближается к только что упомянутым высшим многоклеточным организмам: в каждой старой колонии на сусло-агаре обнаруживаются сальтанты[1].

Задачей настоящей работы являлось сопоставление «спонтанного» расообразования у *Nadsoniomyces sphenoideus* с результатами, получаемыми при воздействии эманации радия.

«Спонтанное» расообразование

Nadsoniomyces sphenoideus был выделен В. И. Кудрявцевым с поверхности стерильно взятых им из Японского моря живых водорослей (*Laminaria japonica*) и описан им в 1932 г. (3). Эта исходная раса *Nadsoniomyces* была взята нами в начале 1933 г. из Микробиологического института Академии Наук СССР.


Фиг. 1

В чистых, выделенных из одной клетки культурах этого грибка постоянно наблюдаются наряду с обыкновенными у дрожжей овальными клетками довольно многочисленные клиновидные клетки (фиг. 1). Клиновидные клетки, как это легко проследить, образуются из обычных дрожжевых клеток следующим образом: дрожжевая клетка дает отросток, увеличивающийся в длину все больше и больше, и клетка постепенно приобретает форму клина. В дальнейшем во многих клиновидных клетках намечается зернистость в центре клетки вдоль всей ее длины. Зернышки сливаются и образуются одна-две центральных нити[2]. Кудрявцев указывает, что «вместе с клетками, имеющими описанные центральные плазматические нити, на 9—10-й день обнаруживаются клиновидные клетки с внутренними круглыми или овальными, иногда грушевидной формы, спорами. Количество спор сильно вариирует от 1 до 18, так же как и их форма». Вопрос о способе образования спор Кудрявцев оставляет пока открытым.

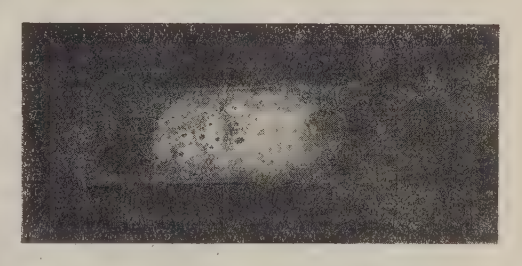
В работе нами применялись следующие среды: сусло (7, 5° Ball,

[1] Сальтациями мы называем наследственные изменения у протистов, аналогичные мутациям у многоклеточных животных и растений.

[2] Эти нити не содержат ни целлюлозы или близких к ней веществ, ни хитина; они вероятнее всего представляют собой плазматические образования.

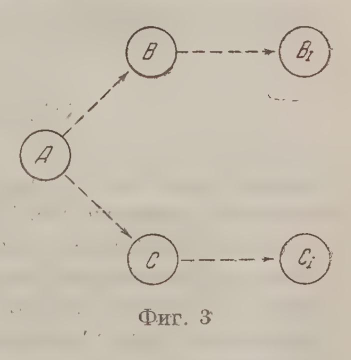
pH = 4.8—5.2), сусло-агар (2%), жидкий водорослевый субстрат [отвар 5 г муки, изготовленной из *Laminaria saccharina* в 100 см³ водопроводной воды (pH = 5.0)], тот же отвар с 2% агара и Ганзеновский раствор с 1% пептона и 5% одного из следующих сахаров: декстроза, галактоза, мальтоза, сахароза, а также с 5% маннита. Отметим здесь, что водорослевые среды по своему составу приближаются к естественной среде обитания *Nadsoniomyces*.

При изучении исходной расы было подтверждено описание *Nadsoniomyces*, данное Кудрявцевым. Отклонение касается лишь двух пунктов, причем второй из них не может считаться существенным: 1) ни разу ни на одном субстрате не наблюдалось образования спор в клиновидных клетках, хотя плазматическая нить внутри клиновидных клеток часто бывает заметна и 2) на жидких средах, в том числе и на водорослевом отваре, образуются не только пленка, но и рыхлый осадок.



Фиг. 2

При культивировании исходной расы, обозначенной как раса *A*, на сусло-агаре в старых (двух-трехмесячных) колониях наблюдается образование кратерообразных углублений в центре колоний (фиг. 2). В термостате при 22—24° С первые кратеры налицо уже через 15 дней. Клетки из этих кратеров при посеве дают колонии, целиком или только частью своей поверхности отличающиеся от гладких колоний расы *A*. Пересевы из гладких частей тех же старых колоний дают только типичные колонии расы *A*. Выделяя измененные формы из одной клетки, можно было убедиться, что всегда в этих кратерах содержатся клетки новой расы *B*, а нередко также и клетки новой расы *C*. Расы *B* и *C*, выделенные из одной клетки, отличаются по ряду признаков от расы *A*. Они в свою очередь дали новые расы, но уже не тем своеобразным для дрожжей путем, который описан выше, а в виде секторсальтантов. Раса *B* дала расу B_1, а раса *C* — расу C_1. Обе они также были выделены из одной клетки. Генезис рас, спонтанно возникших, показан на фиг. 3. В табл. 1 содержатся данные относительно формы и величины клеток и колоний каждой расы (см. также фиг. 4—7 и 8). Добавим здесь, что расы *A*, *B* и C_1 образуют 1—2 пузырька газа в дунбаровской трубочке, наполненной Ганзеновским раствором с дек-



Фиг. 3

Таблица 1

Клетки и колонии рас *Nadsoniomyces*

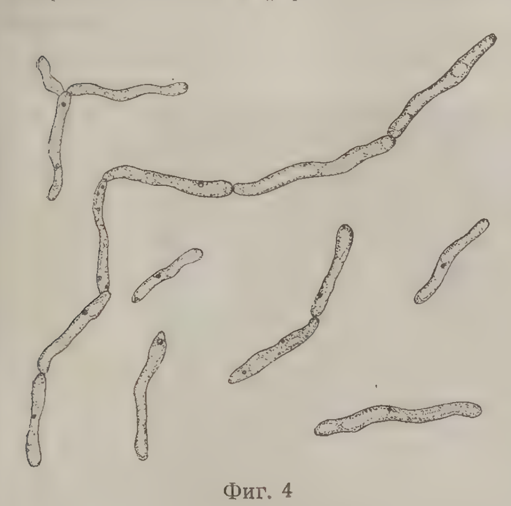
Название расы и время ее получения	Генезис расы	Колонии на сусло-агаре (фиг. 8)	Клетки из колоний на сусло-агаре (фиг. 3—7)	Содержимое клеток
A исходная) IV 1933	Получ. от Кудрявцева (Микроб. Институт Академии Наук СССР), выделившего ее	Гладкие круглые с ровными краями. В месячн. возрасте около 2 см в диаметре	Мелкие круглые клетки и более крупные овальные. Вакуоли мало заметны. Клетки не связаны в цепочки. На периферии колоний часть клеток, вырастая в длину, приобретает клиновидную форму. К концу месяца на периферии колонии содержится до 20% клиновидных клеток. Внутри клиновидных клеток часто ясно видна плазматическая нить (Кудрявцев (3). Образования спор не наблюдалось	В клиновидных клетках много гликогена. Жира сравнит. мало. Метахроматиновые зерна в большом количестве
B IX 1933	От *A*, появляется во всех старых колониях расы *A* на сусло-агаре	Складчатые: складчатость не имеет определенного направления. Величина, как и у расы *A*	Узкие, вытянутые, иногда несколько изогнутые клетки с большими, ясно очерченными вакуолями. Преобладают очень длинные цепочки, состоящие иногда из нескольких десятков клеток. Клиновидных клеток нет	Гликогена меньше, чем у расы *A*. Значительное количество жира (особенно в наиболее узких клетках) и метахроматиновых зерен
B_1 X 1933	От *B* в виде сектора колоний на сусло-агаре	Складчатые: складчатость имеет радиальный характер. Величина, как у расы *A*	Клетки шире, чем у расы *B*. Часты отдельные клетки. Цепочки значительно короче, чем у расы *B*, большей частью из 3—4 клеток. Клиновидных клеток нет	То же, что и у расы *B* (жира несколько меньше)
C IX 1933	От *A*, появляется часто, но не во всех колониях расы *A* на сусло-агаре	Пленчатые, стелющиеся по субстрату колонии с небольшим количеством резко поднимающихся складок. Края неровные, фестончатые. Растут быстро и достигают гораздо большей величины, чем у рас *A*, *B* и B_1[1]	Овальные или удлиненные клетки. По большей части отдельные клетки. Иногда цепочки из 3—4 клеток. Клиновидных клеток нет	То же, что и у расы *B*
C_1 X 1933	От *C* в виде сектора гигантской колонии	Складчатые, растут менее быстро, чем у расы *C*, но значительно быстрее, чем у рас *A*, *B*, B_1. По величине приближаются к колониям расы *C*	Преобладают крупн. овальные клетки. Почти исключительно отдельные клетки. Изредка цепочки из крупных вытянутых клеток. Клиновидных клеток нет	Гликогена немного. Жир и метахроматиновые зерна в значительном количестве. Жировые капельки частью расположены терминально

строзой. Галактоза, мальтоза, сахароза, маннит совершенно не сбраживаются ни одной из рас. Таким образом характеристика, данная Кудрявцевым исходной расе *Nadsoniomyces*, подтверждается и нашими опытами. На жидких средах расы A_1, B_1, C и C_1 образуют пленку и осадок, и только раса *B* дает рост в виде кольца на поверхности жидкости и осадок. Впрочем и у расы *B* через $2^1/_2$ месяца образуется

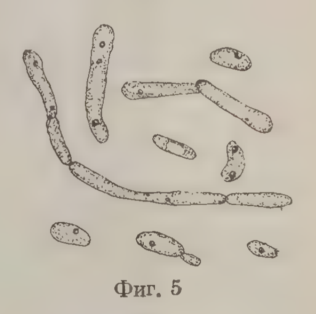
[1] Колонии расы *C* при культивировании, совместном с другими расами на сусло-агаре, не приостанавливают своего роста, как это обычно бывает по близости от колоний других рас, а, продолжая расти, могут зарастать часть их поверхности.

тонкая, легко разрушающаяся пленка. Различия в устойчивости к высоким температурам невелики. Исходная раса *А* выдерживает 10-минутное нагревание до 45° С, однако только в том случае, если материал взят из периферии колонии, где налицо большое количество клиновидных клеток. Остальные расы при этой температуре гибнут.

Нужно подчеркнуть, что все эти новые расы являются по некоторым признакам в высокой степени лабильными. Вместе с тем полного возврата к исходной форме не наблюдалось ни разу, ни при каких условиях. Наиболее легко изменяющимся признаком является форма колоний. Через 16 месяцев после появления новых рас складчатость сохранилась только у расы



Фиг. 4



Фиг. 5

В. Однако в феврале 1935 г., на 18-м месяце, при очередном пересеве первоначальные особенности, характерные для колоний рас *В*, *С*, C_1, внезапно восстановились и с тех пор по настоящее время в продолжение четырех месяцев (12 пересевов) колонии этих рас снова полностью соответствуют описанию, данному в табл. 2 и на фиг. 4—7. Исходная раса



Фиг. 6 Фиг. 7

А, пересеивавшаяся одновременно, не обнаружила никаких признаков складчатости. Оценивая только что указанный факт, приходится сделать

следующий вывод: реверсии, даже по отдельным признакам, происходят на самом деле реже, чем это можно было бы предполагать в начале работы.

Изменения в форме колонии можно видеть не только при пересевах, но и на одной и той же колонии у всех новых рас. Именно, в старых колониях складки как бы размягчаются, расплываются, заплывание усиливается и рисунок поверхности становится все менее и менее ясным. Высевы из очень старых (3—6-месячных) колоний рас B, B_1, C и C_1 могут давать иногда совершенно гладкие колонии, сохраняющие, однако, форму клеток, характерную для новых рас. Ни разу не наблюдалось образования клиновидных клеток в таких гладких колониях.



Фиг. 8

Нами были поставлены некоторые опыты для выяснения условий, стимулирующих или подавляющих «спонтанное» расообразование у исходной расы A.

1. Влияние возраста. Были взяты для посева на сусло-агар пробы из 2-дневных, 22-дневных и 49-дневных колоний на сусло-агаре, развивавшихся в термостате при 22—24° С. Материал брался из гладких частей колоний, и клетки, взятые для посева, имели типичную для расы A форму и величину. Культуры велись в термостате. Отмечалось время появления первых кратеров, т. е. возраст колоний, в которых началось кратерообразование. В опытах было взято 30 пробирок посевного материала по 10 для каждого возраста. Через 17 дней там, где для посева был взят 2-дневный материал, развившиеся колонии еще не образовали кратеров, там где был взят 22-дневный материал — в 20% колоний образовались кратеры. В серии, где посевной материал был 49-дневный 70% колоний образовали кратеры. Через 25 дней процент колоний, образо-

вавших кратеры, был равен 20% в первом случае, 90% во втором случае и 100% в третьем случае. Таким образом, чем старше колония, из которой взят материал для посева, тем быстрее в среднем начинается кратерообразование и тем больший процент колоний через 25 дней содержит кратеры.

2. Влияние углеводов. Ганзеновские растворы с декстрозой, галактозой, мальтозой, сахарозой и маннитом были засеяны расой *A*. Через 45 дней из каждого раствора был взят материал для посева на сусло-агар. Всего было взято 50 пробирок с сусло-агаром, по 10 пробирок для каждого раствора. В остальном опыт велся так, как и предыдущий. Данные, полученные в этом опыте, показали нам, что перечисленные углеводы и маннит не влияют сколько-нибудь заметным образом на расообразование: кратеры образовывались одновременно. Микроскопирование не дало ничего существенно нового (высевы культуры рас *B*, B_1, *C* и C_1 из таких же растворов дали тот же результат).

3. Было прослежено развитие расы *A* на водорослевом субстрате с агаром. Раса *A*, как и расы *B*, B_1, *C* и C_1, дают на водорослевом субстрате медленно растущие небольшие колонии. Характер клеток таков же, как и на сусло-агаре (то же и для других рас). Образование кратеров у колоний расы *A*, даже 5—6-месячных не происходит. При микроскопировании также не было констатировано никаких отклонений от признаков, характерных для клеток расы *A*. Разливки из старых колоний также не давали измененных колоний. Таким образом на водорослевом агаре раса *A* совершенно не дает сальтантов или во всяком случае сальтационный процесс чрезвычайно резко замедлен, настолько, что ни макроскопически, ни микроскопически не выявляется.

Воздействие эманацией радия

Так как опорным пунктом для суждения о расообразовании нам служили преимущественно кратеры в гигантских колониях, то для воздействия была применена соответствующая методика, описанная Надсоном в совместной с Филипповым работе о расообразовании у *Sporobolomyces* (6). Чашка с сусло-агаром заражалась прикосновением петли с посевным материалом в самом центре. Чашка переворачивалась и стеклянный капилляр с радоном помещался в центре крышки, напротив будущей колонии, на расстоянии 5—6 мм. Длительность воздействия варьировала от 24 час. до 4 суток слишком. Дозы варьировали от 0.99 mc. d. до 4.70 mc. d. Облучение производилось при комнатной температуре, и все это время при той же температуре содержались контрольные чашки. Затем, после удаления капилляра и опытные и контрольные чашки помещались в термостат.

Облучению подвергалась исходная раса *A*. Так как предшествовавшими опытами было выяснено, что при высевах из 49-дневных культур на сусло-агар через 25 дней развития в термостате кратеры уже

налицо, то посевной материал брался именно этого возраста и наблюдение за колониями велось не менее 25 дней с момента их помещения в термостат. Всего было поставлено 50 опытных и 50 контрольных чашек. Результаты сведены в табл. 2.

Таблица 2

Влияние эманации радия на образование кратеров в колониях расы *A*

№ опыта	Доза (в mc. d.), данная облучавшейся колонии	Продолжительность облучения в часах	Наличие кратер. через 25 дней в опытн. чашке	Наличие кратер. через 25 дней в контр. чашке	№ опыта	Доза (в mc. d.), данная облучавшейся колонии	Продолжительность облучения в часах	Наличие кратер. через 25 дней в опытн. чашке	Наличие кратер. через 25 дней в контр. чашке
1	1.42	24	+	+	26	3.19	50	+	+
2	1.15	24	+	+	27	2.87	82	+	+
3	1.20	24	+	+	28	4.21	51	—	+
4	0.99	24	+	+	29	2.74	48	+	+
5	0.82	49	+	+	30	3.25	96	+	+
6	1,43	49	+	+	31	3.03	24	—	+
7	4.05	98	+	+	32	2.53	24	+	+
8	2.14	98	—	+	33	3.96	49	+	+
9	1.73	98	—	+	34	3.70	72	+	+
10	4.12	24	+	+	35	3.89	51	—	+
11	3.30	24	+	+	36	1.37	24	+	+
12	3.46	40	—	+	37	2.92	73	+	+
13	2.18	35	+	+	38	2.99	25	+	+
14	1.91	42	+	+	39	4.32	48	—	+
15	2.73	21	+	+	40	4.26	72	+	+
16	3.60	34	—	+	41	1.80	50	+	—
17	4.72	65	+	+	42	4.49	47	—	+
18	1.58	30	+	+	43	1.74	24	+	+
19	1.82	21	+	+	44	2.48	46	+	+
20	1.80	34	+	+	45	1.83	48	+	+
21	3.91	31	—	—	46	3.18	24	—	+
22	2.65	25	+	+	47	3.07	28	—	+
23	3.94	24	—	+	48	4,46	96	—	+
24	2.66	26	—	+	49	4.54	96	+	+
25	2.12	26	—	+	50	1.42	49	+	+

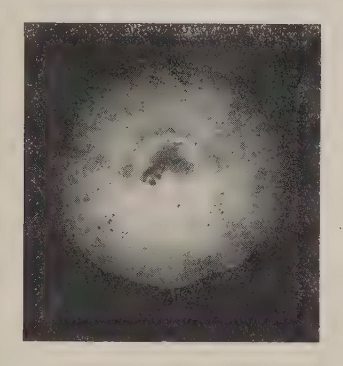
Как видно из этой таблицы процент колоний (25-дневных), содержащих кратеры, заметно понижен в опытных чашках по сравнению с контрольными. Diff. $= 0.28 \pm 0.07$. Облученные колонии растут медленнее и достигают меньшей величины (фиг. 9 и 10). Микроскопическое исследование облученных колоний, как содержащих, так и не содержащих кратеров, показало, что на их периферии значительно меньше клиновидных клеток, чем на периферии колоний из контрольных чашек. Что же касается самих кратеров, то они в контрольных чашках содержали, как обычно, клетки рас *B* и *C*. В опытных чашках кратеры содержали клетки тех же рас, но кроме того в опытах 17, 26 и 49 были обнаружены клетки новой расы *D*, о которых см. дальше.

Нужно отметить, что средняя величина дозы, полученной колониями, не образовавшими кратеров, значительно выше средней величины дозы

для колоний, образовавших кратеры. Diff. $= 0.95 \pm 0.28$. Иногда удавалось даже подсчитать, из скольких центров начинается развитие после удаления капилляра (фиг. 9).

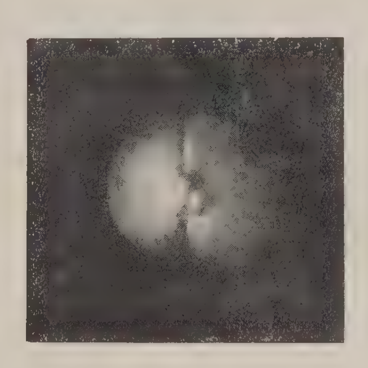
Чем может объясняться понижение процента сальтаций среди колоний, подвергавшихся облучению? Объяснений, кажется, может быть предложено два.

1) Эманация радия задерживает размножение клеток и развитие колоний (продукты обмена веществ накопляются медленнее), запаздывает и наступление момента кратерообразования, больше того, этот момент может совсем не наступить. В пользу этой точки зрения можно привести факт отсутствия кратеров в колониях, развивающихся на водорослевом агаре.





Фиг. 9



Фиг. 10

2) Клетки, могущие впоследствии дать начало новым расам, более чувствительны к действию радона и раньше остальных выбывают из строя.

Для того чтобы проверить пригодность второго объяснения, следовало сравнить радиочувствительность рас *A*, *B* и *C*. Соответствующие опыты были поставлены. Облучению подвергалась также раса *D*. Выбор методики (см. ниже) объясняется желанием сравнивать радиочувствительность рас при тех же условиях, при каких производилось облучение исходной расы *A*.

Чашки Петри, 9 см в диаметре, делились на четыре квадранта, соответственно четырем изучаемым расам — *A*, *B*, *C*, и *D*. В каждом квадранте на расстоянии 3 мм от абсциссы и ординаты и 3 мм друг от друга наносились стерильным стальным пером одинаковой величины капли взвеси одной из рас. Капилляр помещался в центре крышки, параллельно одной из осей (чашка предварительно перевертывалась) на расстоянии 5—6 мм от питательного субстрата. 100—120 колоний каждой из 4 рас оказывались одинаково (симметрично) расположенными по отношению к капилляру. Схема опыта показана на фиг. 11.

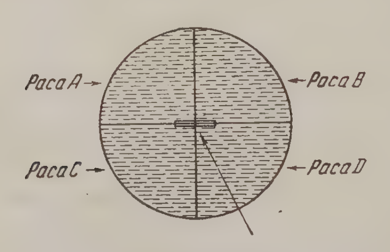
После удаления капилляра (облучение шло при комнатной температуре в темноте) чашки помещались в термостат и через несколько дней подсчитывалось число выросших колоний отдельно для каждой расы. Контролем служили чашки, засеянные точно таким же образом (в каждом квадранте колонии одной расы), но не подвергавшиеся облучению.

Таблица 3

Радиочувствительность рас *A*, *B*, *C* и *D*

Доза и продолжительность облучения	% колоний, уцелевших после облучения радоном у рас			
	A	*B*	*C*	*D*
8.37 mc. d. 89 час.	36.6	25.2	36.0	39.0
7.42 mc. d. 89 час.	43.3	34.8	48.1	52.4
6.77 mc. d. 89 час.	49.4	37.5	54.1	52.9
9.72 mc. d. 115 час.	20.4	17.7	18.4	24.5
8.27 mc. d. 115 час.	44.8	33.6	49.6	45.5
7.26 mc. d. 115 час.	58.9	44.9	58.3	64.7
Контрольные чашки (среднее для всех опытов)	98.3	95.4	96.8	96.9

Результаты опытов были следующие (табл. 3). Раса *B* несколько более чувствительна к действию радона, чем исходная раса *A*. Расы *C* и *D* мало отличаются от расы *A* по своей радиочувствительности,



Фиг. 11. (Стрелка указывает на капилляр с радоном)



Фиг. 12

будучи, быть может, немного менее чувствительны, чем эта последняя (если это различие не лежит в пределах ошибки опыта).

Во всяком случае, если эти различия в радиочувствительности и играют какую-нибудь роль в эффекте действия эманации на исходную

расу *A* (табл. 2), то представляется сомнительным, чтобы ими можно было всецело объяснить этот эффект. Приходится следовательно считаться и с первым объяснением (см. стр. 193).

В заключение несколько слов о радиорасе *D*. Колонии этой расы часто дают начало секторам с иной формой поверхности, отличающейся от грубо-складчатой поверхности колоний расы *D*. Раса *D* весьма полиморфна. Преобладают удлиненные клетки. Характерны для этой расы длинные отроги, образуемые некоторыми клетками. Отроги иногда на конце расширяются и получаются картины, напоминающие некоторые расы грибка *Sporobolomyces* (фиг. 12). Что же касается до секторов, образуемых колониями расы *D*, то некоторые из них близки по своим свойствам к расе *C*, другие же с гладкой поверхностью еще недостаточно изучены (они, как выяснено нами, не содержат клиновидных клеток и этим резко отличаются от исходной расы *A*).

В заключение приношу глубокую благодарность акад. Г. А. Надсону за ценные советы и указания.

Государственный рентгенологический
и радиологический институт.
Ленинград.

ЛИТЕРАТУРА

1. Demerec M., Proc. Nat. Acad. Sci., t. XV, 1929.
2. Emerson R. A., Genetics, 1917.
3. Кудрявцев В. И., ДАН СССР, № 12, 1932.
4. Надсон Г. А., Проблема изменчивости микробов, 1931.
5. Надсон Г. А. и Филиппов Г. С., Журн. Русск. бот. о-ва, т. XIII, 1928.
6. Надсон Г. А. и Филиппов Г. С., Вестн. рентгенолог., и радиолог. т. X, 1932.
7. Надсон Г. А. и Рохлина Э. Я., Вест. рентгенолог. и радиолог., т. XIII, 1933.
8. Olenov J. M., Centralbl. Bact., II Abt., B. 92, 1935.
9. Филиппов Г. С., Вестн. рентгенолог. и радиолог., т. X, 1932.
10. Сидоров Б. Н., Биолог. журн., т. III, № 1, 1934.
11. Stadler Z. J., Proc. Nat., Acad. Sci., t. XV, 1929.

J. M. OLENOV. VARIABILITÄT DES *NADSONIOMYCES SPHENOIDEUS* KUDR und DIE EINWIRKUNG DER RADIUMEMANATION

ZUSAMMENFASSUNG

Die Aufgabe der Arbeit war die spontane Rassebildung beim Hefepilz *Nadsoniomyces sphenoideus* mit der Rassebildung unter der Einwirkung der Radiumemanation zu vergleichen. *Nadsoniomyces sphenoideus* ist von Kudrjavzev im Fernen Osten von der Oberfläche der Meeresalge *Laminaria japonica* isoliert und beschrieben worden. Eine Kultur des genannten Pilzes ist von uns aus dem Mikrobiologi-

schen Institut der Akademie der Wissenschaften der UdSSR bezogen worden. Auf Würzeagar bildet sich in jeder Riesenkolonie der Ausgangsrasse eine kraterförmige Vertiefung (Abb. 2), welche Zellen enthält, aus denen neue Rassen entstehen. Zellen der Ausgangsrasse und der neuen Rasse sind in Abb. 3—7 und 8 dargestellt. Zur Klärung der Bedingungen, welche die spontane Rassebildung beschleunigen oder hemmen, wurden Versuche unternommen, die zu folgenden Schlüssen führten:

1) Je älter die Kolonie ist, aus welcher das Material zur Aussaat entnommen wurde, desto durchschnittlich schneller tritt Kraterbildung ein, und desto grösser ist der % der Kolonien, welche nach 25 Tagen Krater gebildet hatten.

2) Der Ersatz eines Kohlehydrates in der Hansenschen Nährlösung durch andere (angewandt wurden Dextrose, Galaktse, Maltose, Saccharose und ausserdem Mannit) übt keine wesentliche Wirkung auf den Prozess der Rassenbildung aus.

3) Auf einem Algensubstrat (Dekokt aus *Laminaria saccharina* mit Agar) auf welchem *Nadsoniomyces* kleine langsam wachsende Kolonien bildet, fehlt die Rassenbildung vollkommen, oder die Variabilität des Pilzes ist jedenfalls stark herabgesetzt; sie wird weder makroskopisch, noch mikroskopisch festgestellt.

In den Versuchen mit Radiumemanation wurde die Ausgangsrasse bestrahlt. In der Mitte der Petrischale mit Würzeagar wurde je eine Kolonie angelegt, die Schale umgedreht und das Kapillar mit Radon ins Zentrum des Deckels unmittelbar unter die zukünftige Kolonie 5 6 mm von derselben entfernt gelegt. Die Dauer der Einwirkung des Ra variierte von 24 bis 100 Stunden. Die Dosen variierten von 0.99 bis 4.70 mc. d.

Die bestrahlten Kolonien entwickeln sich langsamer und erreichen kleinere Dimensionen als die Kontrollkolonien (Abb. 9 und 10). Der Prozent der kraterenthaltenden Kolonien war beträchtlich geringer in den Versuchsschalen. Diff. $= 0{,}28 \mp 0{,}07$. Ausserdem wurde beim Vergleich der Versuchsschalen untereinander festgestellt, dass diejenigen der bestrahlten Kolonien, welche keine Kraterbildung aufwiesen, einer durchschnittlich stärkeren Einwirkung unterworfen worden waren. Diff. $= 0.95 \pm 0.28$. Das Sinken des % der kraterbildenden Kolonien kann auf zwei verschiedene Weisen erklärt werden:

1) Die Radiumemanation hemmt die Entwicklung der Kolonie (die Stoffwechselprodukte häufen sich langsamer an), dabei wird das Auftreten der Kraterbildung verzögert; manchmal werden Krater überhaupt nicht gebildet. Für diese Erklärung spricht die Tatsache, dass in den Kolonien, welche sich auf Algenagar entwickelt haben, auf welchem das Wachstum überhaupt langsam vor sich geht, keine Krater entstehen.

2) Zellen, aus welchen neue Rassen entstehen können, sind empfindlicher zur Einwirkung des Radons und gehen daher früher zu Grunde. Die Wahrscheinlichkeit der zweiten Erklärung wurde von uns durch das vergleichende Studium der Radiumempfindlichkeit der Ausgangsrasse und der neuen Rasse geprüft (ein Schema der Versuche ist in Abb. 11 gegeben). Die Versuche haben gezeigt, dass der Unterschied in der Radiumempfindlichkeit der Zellen verschiedener Rassen nicht gross ist, und selbst wenn dieser Unterschied irgend eine Rolle im Effekt der Radiumwirkung auf den Prozess der Kraterbildung der Ausgangsrasse spielt, so ist es doch zu bezweifeln, dass man hierdurch die obengeschilderten Resultate vollkommen erklären könnte. Man muss folglich die erste Erklärung berücksichtigen.

Leningrad.
Staatsinstitut für Roentgenologie und Radiologie.
Mikrobiologisches Laboratorium. 1935.

ИЗВЕСТИЯ АКАДЕМИИ НАУК СССР. 1936
BULLETIN DE L'ACADÉMIE DES SCIENCES DE L'URSS

Classe des sciences mathématiques et naturelles

Отделение математических и естественных наук

Э. Я. РОХЛИНА

ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ДРОЖЖЕВОЙ КЛЕТКИ

(*Представлено академиком* **Г. А. Надсоном**)

Автор изучал цитологические особенности дрожжевой клетки в их динамике, причем главным образом акцентируются вопросы старческой дегенерации клеточных элементов и в частности ядра.

Возрастные изменения у дрожжей настолько характерны, что по цитологической картине можно определить возраст дрожжевой культуры.

Возрастные особенности клетки связаны с изменением ее химического состава и физических свойств. Эти явления выражаются в изменении величины клеточной вакуоли, в зернистом и жировом перерождении плазмы и прогрессирующем ее распаде и лизисе. Изменения в ядре выражаются в его разрыхлении и распаде, в рассеивании хроматина и хроматолизе.

Старение клеточных элементов не идет синхронно: одни элементы изменяются быстрее и стареют раньше, иные, как напр. ядро — позже.

Старческие изменения не всегда летальны. Из $^1/_2$-годовой сусло-агаровой культуры не прорастает лишь 5%. Почкование у старых клеток протекает ненормально, со значительным опозданием; почки неполноценны в смысле содержания хроматина.

Темп возрастных изменений зависит в значительной мере от внешних факторов — пищи, температуры и т. д.

Каждый этап развития клетки сопровождается определенными изменениями клеточных элементов. По этим изменениям можно судить о физиологическом состоянии клетки, о проявлениях стимуляции и депрессии жизнедеятельности клетки, о характере ее реакции на условия среды и разные физико-химические раздражители и т. д. Многие патологические изменения, возникающие в клетке под влиянием ненормальных условий внешней среды, имеют также место и при физиологическом старении. Физиология старения и патология клетки имеют много общего. Изучение старческих изменений дает поэтому ключ к пониманию патологии клетки.

Возрастные особенности клетки приобретают особый биологический интерес. Между тем сведения о возрастной изменчивости микроорганизмов в общем довольно скудны. Это может объясняться техническими трудностями исследования столь мелких клеток.

Однако, как показали наши исследования над дрожжевой клеткой, отличающейся сравнительно большими размерами, возрастные изменения у этих микроорганизмов настолько характерны, что по цитологи-

ческой картине можно определить возраст дрожжевой культуры. Эти же исследования показали, что старение клеточных элементов не идет синхронно: одни элементы изменяются быстрее и стареют раньше, другие, как например ядро, значительно позже. Указания, касающиеся возрастных изменений дрожжевой клетки, имеются главным образом в работах Гильермога (Guilliermond) (1), Надсона (2), Вилля (Will) (3) и др. Первый описывает изменения в плазме и ядре дрожжевой клетки в период ее ферментативной активности, а также в стадии вегетативного и генеративного размножения. В работах Надсона мы находим ряд указаний на старческие изменения в живой дрожжевой клетке, причем исследования эти не касаются изменений в ядре.

Настоящая работа посвящена изучению цитологических особенностей дрожжевой клетки в их динамике, причем главным образом акцентируются вопросы старческой дегенерации клеточных элементов и в частности ядра.

В качестве объекта мы пользовались дрожжами *Saccharomyces cerevisial*, берлинская раса № XII. Эти дрожжи являются очень удобным объектом для цитологических исследований вследствие их относительно больших размеров. Клетки круглой, чаще овальной или эллипсоидальной формы, размером 6.2×7.8 μ в среднем.

Дрожжи выращивались на плотном субстрате (пивное сусло 7.5 Ball с 2% агаром; $pH = 4.8 - 5.2$) или же в пивном сусле без агара при комнатной температуре ($12 - 16°$ C). Исследовались изменения, видимые в живых, неокрашенных клетках, а также на фиксированном и окрашенном материале.

Для изготовления препаратов мы пользовались следующей методикой: платиновой петлей производились на покровном стекле мазки из дрожжевой культуры, после чего стеклышко помещалось (смазанной поверхностью вниз) в плотно закрытую баночку, содержащую на дне предварительно подогретую смесь формалина (продажного) с уксусной кислотой (10:1). Стеклышки ставились на стеклянных подставках для избежания соприкосновения с фиксирующей жидкостью. В теплых парах фиксатора препараты оставлялись на $1/2$ — 1час, после чего промывались в большом сосуде с водой, несколько раз сменяемой (промывка около 20 мин.). Таким образом зафиксированные препараты подвергались последующей окраске железным гематоксилином по Гейденгайну: протравливание в 2% водном растворе железо-аммиачных квасцов над горелкой до появления паров, после чего препараты оставлялись в квасцах около $1/2$ часа и затем промывались тщательно в воде (протравливание производилось в часовых стеклах). Окраска железным гематоксилином производилась тоже в часовых стеклах. Гематоксилин подогревался до появления паров, причем гематоксилин сменялся три раза. Препараты (стекла с мазками дрожжей) оставлялись затем в краске около часа, после чего промывались в воде и дифференцирова-

лись в квасцах. Дальше препараты обрабатывались обычным путем: спирты гвоздичное масло—ксилол—канадский бальзам. Параллельно мы подвергали также препараты дрожжей микрохимической реакции Feulgen'a. Мы получали отчетливую дифференциальную окраску хроматина (тимонуклеиновой кислоты) сернистым фуксином (красный цвет). Исследовались культуры возрастом от 1 суток до 6 месяцев.

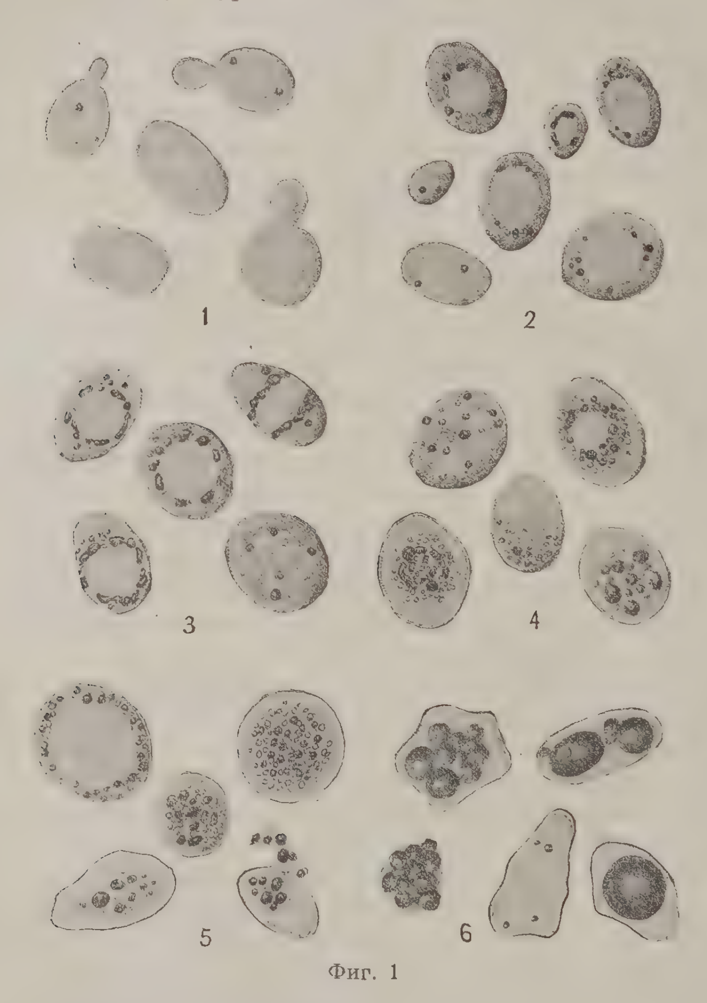
Возрастные особенности клетки связаны с изменениями химического состава и физических свойств живого вещества. Последние сводятся к изменениям аггрегатного состояния протоплазмы, к изменениям биоколлоидов. Эти изменения идут по пути уменьшения дисперсности молекулярных связей живого вещества и гидрофильности биоколлоидов, по пути их уплотнения. Живое вещество молодой клетки отличается высокой степенью дисперсности и гидрофильностью биоколлоидов. Эти свойства находят отражение во внешнем виде протопласта молодой клетки. Плазма выступает в виде гомогенной, гиалиново-прозрачной массы. Обилие плазмы, значительные сравнительно размеры ядра, небольшая вакуоля, являющаяся резервуаром для обильных в этой стадии запасных веществ (метахроматина, гликогена), нежная оболочка — вот характерные особенности молодых клеток (1 — 2-суточная культура в сусле). На фиг. 1 изображены соответствующие клетки. Увеличение всех рисунков—около 1 500. Ядро в этот период обильного почкования претерпевает ряд изменений, связанных с его амитотическим делением. Разные стадии деления ядра изображены на фиг. 2, 7. Образование почки предшествует моменту деления ядра, так что ядро проникает в уже сформировавшуюся почку.

Дальше в результате начинающейся дегидратации коллоидов плазмы увеличиваются размеры клеточной вакуоли, светопреломляемость плазмы несколько усиливается; повышается содержание метахроматина, гликогена. Ядро принимает покоящееся состояние и выступает в виде интенсивно красящегося шаровидного образования. Часто ядро имеет вид пузырька, содержащего компактную хроматиновую массу в виде серпа или полулуния (фиг. 2, 7, 8). Величина ядра колеблется приблизительно в пределах 0.8–1.7 μ.

Последующие изменения в плазме нарастают довольно быстро. Клеточная вакуоля все больше увеличивается, наряду с этим наблюдается утончение плазматического слоя. Плазма теряет свой гомогенный вид, становится мелко гранулированной и, что особенно характерно, в ней появляются мелкие жировые капельки. Жировые и липоидные накопления могут возникать, с одной стороны, за счет находящихся в клетке углеводов (в частности гликогена), а с другой,— за счет расщепления живого вещества клетки. Появление жира в клетке трактуется Надсоном как старческое перерождение плазмы, связанное с расщеплением липопротеинового комплекса. Белковый компонент подвергается прогрессирующей коагуляции, а освободившиеся липоиды образуют все большие скопления.

В свете этой теории появление жировых капелек и мелкой зернистости в плазме является предвестником старения клетки.

На фиг. 1, изображены соответствующие клетки, относящиеся к 5—10-суточной культуре.



Фиг. 1

Ядро в соответствующих клетках почти не изменено; оно находится в покоящемся состоянии и имеет вид, описанный выше (фиг. 2, верхние три клетки).

В дальнейшем изменения идут по пути прогрессирующей коагуляции и убыли плазмы, по пути ее жирового перерождения; клеточная вокуоля еще более увеличивается, клетка сильно разбухает. Разбухание клетки, как нам кажется, стоит в тесной связи с давлением клеточного сока, количество которого увеличивается за счет отбухания

коллоидов, а также с повышением концентрации растворенных в соке веществ.

Параллельно выступающие процессы убыли плазмы и накопления жира в клетке говорят за то, что жир может образоваться за счет белковых веществ плазмы. Подтверждением этому являются химические анализы Дюкло (Ducleaux), установившие, что в старых культурах дрожжи беднеют азотистыми веществами и сильно обогащаются жиром.

На фиг. 1 изображены клетки, взятые из 10—16-суточных культур. Бросается в глаза увеличение объема клетки, увеличение размеров вакуоли, увеличение количества и размеров жировых капель. Вид ядра в большинстве соответствующих клеток почти не изменен; оно имеет такую же шаровидную форму; в некоторых случаях ядро принимает звездчатый или амебовидный вид (фиг. 2, *8*). В дальнейшем все чаще появляются ядра с неправильными очертаниями в виде лопастей, отрогов тупых или острых, зазубрин и т. п.

Эти особенности формы ядра свидетельствуют об изменениях в агрегатном состоянии ядерной субстанции. В то время как молодые ядра подобно жидкостям имеют тенденцию округляться, с возрастом они все более уплотняются, так что могут сохранять угловатые, острые очертания.

В дальнейшем изменения нарастают значительно медленнее. Клеточная оболочка сильно утолщается и уплотняется, плазма становится грубозернистой и комковатой, жировые капли значительно укрупняются, форма клеток все более приближается к шаровидной. Дрожжи имеют вид покоящихся клеток типа хламидоспор. На фиг. 1 представлены соответствующие клетки, взятые из 1-месячных культур. Что касается ядра, то оно претерпевает ряд деструктивных изменений, сводящихся к изменению формы, набуханию и к распаду хроматина на бесформенные глыбки (фиг. 2, *9*).

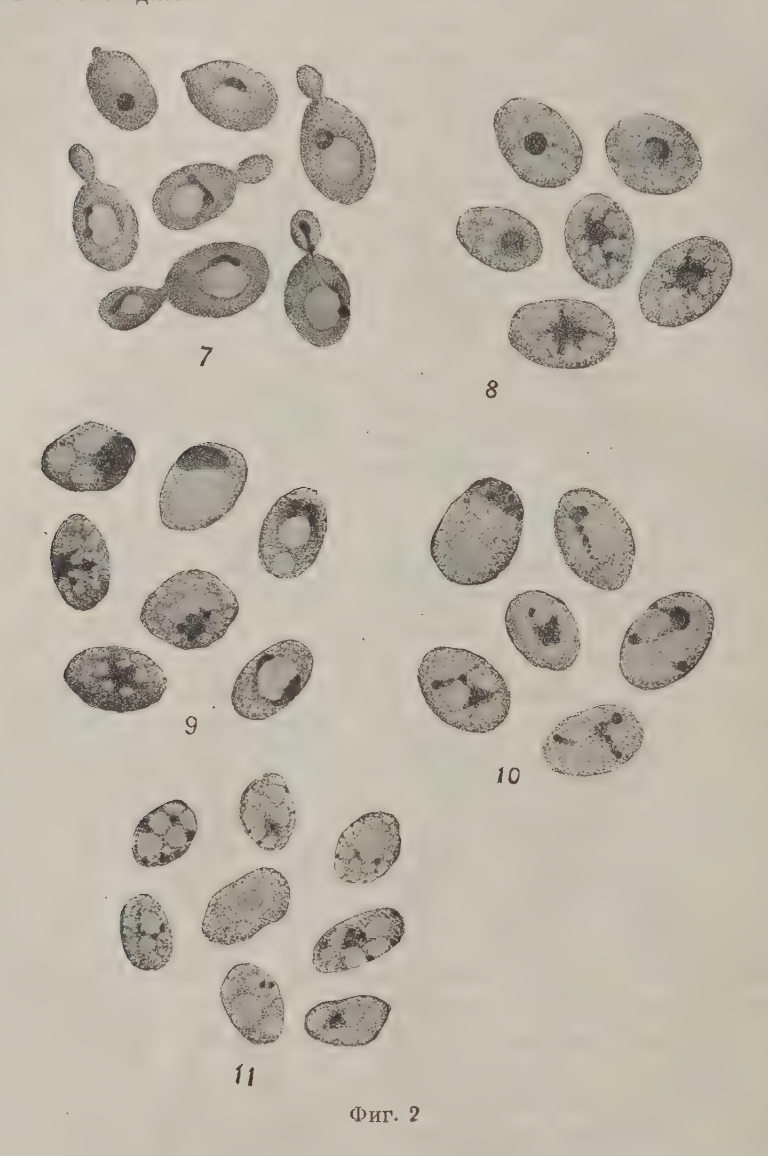
Описанные выше изменения с возрастом культуры сильно прогрессируют и в $1^1/_2$—3-месячных культурах выступают с особенной рельефностью (фиг. 1, *5*). Плазма становится все бледнее, что свидетельствует о ее растворении.

Что касается ядра, то оно идет по пути дальнейшего распада и рассеивания хроматина, переходящего в плазму. На фиг. 2 представлены соответствующие клетки, принадлежащие к 3–4-месячным культурам. Видны плазматические тяжи, по которым идет рассеивание хроматиновых глыбок.

Дальнейшие изменения идут под знаком облитерации клетки и лизиса клеточных элементов, а также резкого жирового перерождения. Клетки съеживаются, сильно уменьшаются в размерах и приобретают неправильные очертания.

Большинство клеток содержит немногочисленные, но чрезвычайно крупные капли жира. Резко выступает двуконтурность оболочки. Попа-

даются клетки почти пустые. На фиг. 1, изображены соответствующие клетки из 3—6-месячных культур. Клеточная оболочка иногда подвергается лизису, и содержимое в виде скопления крупных жировых капель освобождается.



Фиг. 2

Клеточное ядро подвергается дальнейшему распаду и частичной резорбции. От ядра часто остаются лишь 1—2 мелких зернышка.
Нередко появляются безъядерные клетки. Соответствующие измене-

ния представлены на фиг. 2, *10* и *11* (на первой из них изображены клетки из 3—4-месячных, на второй из 5—6-месячных культур).

Итак старческие изменения ядра дрожжевой клетки характеризуются следующими признаками: съеживание ядра, неправильные его очертания, ослабленная способность окрашиваться, распад и рассеивание хроматина, хромотолиз и растворение ядра.

Что касается запасных веществ вроде метахроматина, гликогена и др., то они постепенно исчезают с возрастом культуры и в старых 4—6-месячных культурах вовсе отсутствуют.

Убывание этих запасных веществ с возрастом культуры удается проследить на одной и той же колонии; они убывают по направлению к центру колонии, т. е. самой старой ее части.

Описанные выше глубокие старческие изменения в живом веществе дрожжевой клетки не являются однако летальными. Значительное большинство клеток, за исключением пустых клеток без ядер, без всякого содержимого, способны регенерировать, способны прорастать и размножаться. По нашим подсчетам при посеве клеток из $^1/_2$-годовой культуры на сусло-агаре на свежий субстрат не прорастает лишь 5%, остальные же быстро омолаживаются и почкуются. Крупные капли жира как бы тают, уменьшаясь все более в размерах и количестве, а на их место появляется бледная, гомогенная, слабо преломляющая свет эмульсия, постепенно заполняющая клетку. Оболочка теряет свою резкую светопреломляемость, становится тонкостенной. Через 2—3 суток после пересева клетки начинают размножаться.

Однако процесс почкования у старых клеток не всегда протекает нормально. Почкообразование у них идет медленно, с опозданием; почки часто вырастают не на верхушке, как это происходит в норме, а с боку клетки. Почка долго не отрывается от материнской клетки и достигает размеров первой, так что трудно отличить дочернюю клетку от материнской.

Распределение хроматина идет крайне неравномерно. В виду того, что большинство рассеянных хроматиновых глыбок не принимает участия в делении ядра, образовавшаяся почка в смысле содержания хроматина является неполноценной.

Однако в дальнейших генерациях ядро постепенно восстанавливается.

Как показали наши исследования темп возрастных изменений зависит в значительной мере от внешних факторов: от пищевого режима, от субстрата, от температуры и т. д. Так например, вышеописанные возрастные изменения выступают значительно медленнее в жидких средах (сусле). Повышение температуры ускоряет темп старения клеток точно так же, как и обильный пищевой режим.

Государственный рентгенологический институт.
Микробиологическая лаборатория.
Ленинград. 1935.

ЛИТЕРАТУРА

1. Guilliermond, Centralblatt f. Bakt., II Abt. 26, 577, 1910.
2. Надсон Г., Вестник рентгенологии и радиологии, 1920, 105.
3. Will H., Anleitung zur Biologie, Untersuchung und Begutachtung von Bierwürze etc., 42, 1909.

E. J. ROCHLINA. ÜBER DIE ALTERSEIGENTÜMLICHKEITEN DER HEFEZELLE

ZUSAMMENFASSUNG

Vorliegende Arbeit ist dem zytologischen Studium der Alterseigentümlichkeiten der Hefezelle und speziell der Erscheinungen der Altersdegeneration des Kerns gewidmet.

Die Alterserscheinungen sind bei den Hefen so charakteristisch, dass man nach dem zytologischen Bilde das Alter der Hefekultur bestimmen kann.

Das Altern der Zellelemente erfolgt nicht gleichzeitig: einige Elemente verändern sich schneller und altern früher, die andern, wie z. B. der Kern, bedeutend später.

In der Fig. 1 sind Altersveränderungen, welche in den Zellen in vivo beobachtet werden, dargestellt.

Fig. 2 zeigt die Altersveränderungen im Kerne, welche in den fixierten und gefärbten Präparaten beobachtet werden.

In der Fig. 1 sind junge Hefezellen aus einer 1-2-tägigen Kultur dargestellt. Die Mehrzahl der Zellen befindet sich im Stadium der Sprossung. Die Zellen zeichnen sich durch eine zarte Membran, ein hyalinblasses Plasma, durch relativ geringe Dimensionen der Vakuolen, durch unbedeutende Fetteinschlüsse aus. Der Kern (Fig. 2, *7*) befindet sich im Stadium der Teilung oder im Ruhezustande. Im letzten Falle hat er die Form eines kompakten, kugelförmigen Chromatinkörpers. In diesem Stadium werden reichliche Reservestoffe, spez. Metachromatin und Glykogen beobachtet.

In der Fig. 2 sind Zellen aus den 5-10-tägigen Kulturen dargestellt. Dieses Stadium wird durch die Trübung des Plasmas, durch das Auftreten feiner Eiweisskörnung, feinen Lipoidtröpfchen, durch die Vergrösserung der Zellvakuolen, durch die Verdünnung der Plasmaschicht und durch das Fehlen der Reservestoffe gekennzeichnet. Der Kern (Fig. 2, *8*) behält in vielen Zellen seine Kugelform, oder wird sternförmig, was von der Veränderung des Aggregatzustandes der Kernsubstanz zeugt.

In der Fig. 1, *3* sind Zellen aus den 10-16-tägigen Hefekulturen dargestellt. Dieses Stadium wird durch die Quellung der Zellen, durch die Vakuolenvergrösserung und durch die weitere fettige und körnige Metamorphose des Plasmas charakterisiert. Die Auflockerung des Kernes und seine unregelmässige Umrisse ergänzen dieses Bild.

In der Fig. 1, *4* sind Zellen aus einer monatlichen Kultur dargestellt.

Die Zellen zeichnen sich durch die Verdickung der Membran, durch die grobe Körnung und Flockung des Plasmas, durch die weitere Quellung der Zellen und des Kernes, ebenso wie durch Chromatinzerfall aus (Fig. 1, *9*).

In der Fig. 1, *5* sind Zellen aus den $1^1/_2$-3-monatlichen Kulturen dargestellt. Die Zellen sind stark gequollen, kugelförmig und sind mit zahlreichen Lipoidtröpfchen gefüllt; die Menge des Plasmas ist stark reduziert. Es werden auch geschrumpfte Zellen mit unregelmässigen Umrissen beobachtet. Diese Zellen sind inhaltsarm. Der Kern wird dem Zerfall, der Zerstreuung und z. Teil einer Resorption unterworfen (Fig. 2, *10*). Alle diese Erscheinungen treten besonders deutlich in den Fig. 2, *10*, *11* (3-4-monatliche Kultur) hervor. Hier wird auch eine starke Vergrösserung der Lipoidtröpfen beobachtet.

Die erwähnten Strukturwechselerscheinungen zeugen von progressierendem Zerfall und Lysis des lebendigen Protoplasmas.

Die körnige und fettige Metamorphose des Plasmas, seine Auflösung, die Zersetzung des Kerns, die Zersplitterung und Zerstreuung des Chromatins und die Chromatolyse stellen charakteristische Merkmale der alternden und alten Zellen dar.

Ungeachtet des tiefgreifenden Alterserscheinungen des Protoplasmas bleibt jedoch die Mehrzahl der Hefezellen lebensfähig. Bei der Überimpfung auf frischen Nährboden unter normalen Vegetationsbedingungen sind die alten Zellen (aus einer $^1/_2$-1-jährigen Kultur) regenerations-, entwicklungs- und vermehrungsfähig. Die Sprossung verläuft aber bei alten Kulturen nicht immer normal. Die Sprossbildung geht langsam und mit Verspätung vor sich, die Sprossen entstehen nicht am Pol, sondern an der lateralen Seite der Zelle. Die Sprossen trennen sich noch lange nicht von der Mutterzelle ab indem sie dabei die Dimensionen derselben erreichen, so dass es schwer fällt, die Tochterzelle von der Mutterzelle zu unterscheiden. Die entstehenden Sprossen sind hinsichtlich ihres Chromatingehaltes nicht vollwertig.

In den folgenden Generationen stellen sich der normale Bau und die normale Funktion der Hefezellen wieder her.

Staatsinstitut für Roentgenologie und Radiologie.
Mikrobiologisches Laboratorium. 1935.
Leningrad.

ИЗВЕСТИЯ АКАДЕМИИ НАУК СССР. 1936
BULLETIN DE L'ACADÉMIE DES SCIENCES DE L'URSS

Classe des sciences mathématiques et naturelles

Отделение математических и естественных наук

А. Г. КОНОКОТИНА и Л. В. САВШИНСКАЯ

РАСЩЕПЛЕНИЕ РАС У ГРИБКА *ENDOMYCES VERNALIS* LUDW. И ВЫТЕСНЕНИЕ ОДНОЙ РАСЫ ДРУГОЮ[1]

(*Представлено академиком* Г. А. Надсоном)

У жирового грибка *Endomyces vernalis* при применении различных факторов получено три сальтанта: а) с гладкими, блестящими колониями, б) с сухими, морщинистыми и в) с щетинистыми колониями.

Обычно применяемая среда для культивирования дрожжей и грибков — сусло-агар — способствует расщеплению рас у *Endomyces vernalis* на блестящие и сухие варианты, причем первые вскоре вытесняются последними. Таким образом на этой среде жировые дрожжи довольно скоро перерождаются.

На среде из березового сока, а также из картофельного отвара с 1% глюкозы сальтанты сохраняются неизменными в течение долгого времени (в течение четырех лет).

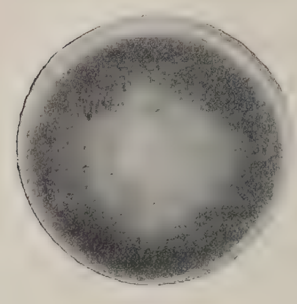
Нередко в производстве, а также в лабораторной практике приходится иметь дело с вырождением дрожжей. Здесь в большинстве случаев имеет место расщепление рас и вытеснение одной расы другою.

Чрезвычайно интересно и практически необходимо изучать условия, при которых происходят эти процессы, чтобы уметь направить их в желательном смысле. Целый ряд работ в этом направлении сделан акад. Г. А. Надсоном и его учениками и сотрудниками; при этом изучались различные факторы, напр. лучи Рентгена и радия — Надсоном и Филипповым (9, 10), Надсоном и Рохлиной (11), Филипповым (14). Влияние отравляющих веществ изучалось Мейселем (5, 6). Кудрявцев (8) изучал влияние замораживания. Красильников (2, 3) получил расщепление рас у грибков при высевах материала из старых культур, а также «спонтанное» без применения каких-либо специальных факторов. Интересно отметить, что применение различных факторов приводит часто к одним и тем же результатам; это отмечает Красильников, сравнивая полученные им расы *Saccharomyces cerevisiae* с таковыми, полученными Надсоном и Рохлиной под влиянием эманации радия и Мейселем под влиянием наркотиков. Общую формулировку дал Надсон (13) в 1935 г. Изучая изменения плазмы клеток под влиянием радия, рентгеновых

[1] Доложено в декабре 1932 г. на заседании Ленингр. микробиолог. общества.

лучей, а также других факторов [1], Надсон указывает, что во всех этих случаях были получены очень сходные изменения живого содержимого клеток и притом в той же закономерной последовательности, т. е. наблюдалась смена трех фаз (стимуляция, депрессия и некробиоз); те же основные фазы, — говорит он далее, — проходит живая система микроорганизма и в течение его индивидуального существования на пути от рождения к старости и смерти.

Применение такого фактора, как лучистая энергия, только ускоряет темп развития микроорганизмов и в связи с этим ускоряет и процесс расщепления культуры, который в обычных условиях совершается медленно (12). Ход расщепления обычно идет от гладких и блестящих рас к сухим и морщинистым, от розовых и красных к бесцветным (9, 10). Наблюдаются случаи и обратного хода процесса (2), но реже.



Фиг. 1.
Сальтант «гладкий»

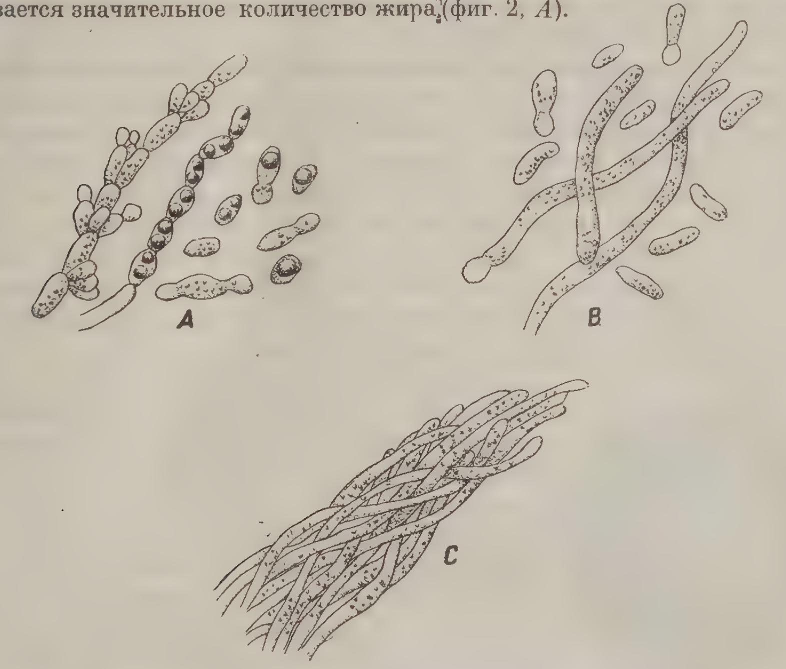
Если изменение микроорганизмов от слизистых и гладких рас к сухим и морщинистым является обычным, и если это свойство присуще микроорганизмам во всех условиях существования, то можно было бы ожидать накопления сухих вариантов за счет уменьшения количества вариантов слизистых. Поскольку, однако, в условиях естественного существования микроорганизмов этого не наблюдается, то очевидно, там нужно искать условия, благоприятствующие существованию гладких и слизистых рас. И в практике в том случае, если исходная раса микроорганизма является наиболее эффективной для производства, иногда настоятельно требуется искать условия, способствующие сохранению ее без изменений.

Работая с так называемыми жировыми дрожжами — *Endomyces vernalis*, в 1918 –1920 и 1932 –1933 гг. (11, 7) мы столкнулись с фактом большой склонности к изменчивости этих грибков. Еще Линднером (Lindner) (4) у *Endomyces vernalis* наблюдались различные расы: гладкая, морщинистая. Эти две расы различно относились к желатиновой среде. Гладкая разжижала желатину, морщинистая—нет. Нами получено три расы, причем применение различных факторов приводило к одним и тем же результатам. Мы применяли: 1) попеременное нагревание и охлаждение от + 10 до — 10°, 2) подсыхание агаровой культуры, 3) подсыхание культур на ломтиках картофеля, 4) продолжительное культивирование на сусло-агаре. Из трех сальтантов, полученных нами, два можно отнести к типу *R* и один к типу *S*.

Сальтант типа *S* — исходная форма. На агаровых средах сальтант *S*

[1] Изучалось действие ультрафиолетовых лучей, паров формалина, этилового и метилового спирта, анилиновых красок, цианистого калия, хлористого калия и натрия, действие низких температур и центрифугирования.

дает гладкий блестящий рост (фиг. 1—гигантская колония). Желатина разжижается на 2—3 день. Под микроскопом эта блестящая раса имеет клетки главным образом дрожжевидной или оидиальной формы, в которых откладывается значительное количество жира (фиг. 2, *A*).



Фиг. 2. Сальтанты: *A* —«гладкий», *B* —«морщинистый», *C*—«щетинистый».

Мицелия сравнительно мало вследствие его большой склонности распадаться на оидии. Эта раса не устойчива в смысле сохранения своих свойств и может снова отщеплять от себя расы типа *R* при некоторых условиях. Два других сальтанта типа *R* называются нами морщинистой и щетинистой расами. Морщинистая раса на агаровых средах дает матовый морщинистый рост (фиг. 3), врастающий в субстрат так, что трудно взять иглой.

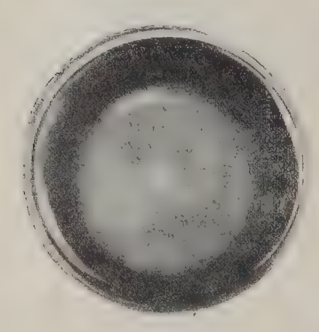


Фиг. 3. Сальтант «морщинистый»

Разжижение желатины наступает только в месячный срок. Под микроскопом наблюдается большое количество мицелия; клетки менее склонны к ожирению, чем у блестящей расы (фиг. 2, *B*). По химическим данным разница в содержании жира сравнительно небольшая: в 10-суточной культуре на сусло-агаре раса гладкая имеет 19% жира на сухой

вес грибка, а раса морщинистая 15%. Но микроскопическая картина дает резкую разницу в смысле содержания жира в клетках. Раса морщинистая вполне устойчива, она получена в феврале 1931 г.; с тех пор много раз пересевалась на различных средах, но сохраняет свои свойства в течение уже четырех лет.

Третья раса — щетинистая. На агаровых средах дает плотный массовый слой (фиг. 4), покрытый щетинками, состоящими из сплетения мицелия (фиг. 2, *C*). Культура врастает в субстрат. При микроскопировании эта раса дает картину, сходную с морщинистой расой, т. е. главным образом мицелий, оидий мало, жира в клетках также не много. Раса эта чрезвычайно устойчива, так как сходная с ней была получена в 1920 г., когда работа производилась в Ленинградском медицинском институте совместно с проф. Надсоном. В течение 14 лет культура пересевалась, иногда через долгие сроки, временами подвергалась подсыханию, продолжительному охлаждению, а иногда и замораживанию.



Фиг. 4.
Сальтант «щетинистый»

Пересевы производились на разные среды: сусло-агар, картофельный агар, морковный агар. И никакие условия, как благоприятные, так и неблагоприятные не изменили свойств этой расы.

В виду описанных свойств рас, именно в виду их неодинаковой устойчивости в случаях одновременного их существования в какой-нибудь культуре, происходит постепенное вытеснение одной расы другою. Так, нами неоднократно замечалось при работе с *Endomyces vernalis*, что культура очень богатая вскоре после выделения жиром, в лабораторных условиях изменяется и дает в конце концов морщинистый рост и очень мало жира. Поэтому было настоятельно необходимо найти условия, при которых не происходит исчезновения блестящей расы. При подыскивании сред первое, что напрашивалось само собою, — это применить среду естественного местонахождения грибка, т. е. березовый сок, из которого грибок обычно выделяется. Затем интересно было выяснить отношение грибка к картофельным средам, так как параллельно с этой работой в лаборатории производилось исследование грибка на способность его накоплять жир на картофеле. Взяты были также сусловые среды, так как обычно в лаборатории грибки выращиваются на сусло-агаре. На этих средах только что выделенная из одной клетки культура *Endomyces vernalis* пересевалась через каждые 10 дней в течение одного года. Еще далеко до этого срока культуры на разных средах стали отличаться друг от друга, а именно культура на агаре с березовым соком и картофельным отваром сохраняла свои свойства исходной расы *S*, тогда как культура на сусло-агаре совершенно стала сходной

с сальтантом типа *R* как по морфологическим свойствам, так и в отношении культуральных признаков. Здесь, как уже указывалось, произошло расщепление и вытеснение расы *S* более устойчивой расой *R*. Первые две среды более благоприятны для сохранения свойств исходной расы. В смысле практическом среда из березового сока вряд ли может быть рекомендована в виду трудности добывания ее, так как только весной при березовом сокотечении можно его получить. Картофельная же среда дешева и легко доступна и может быть вполне рекомендована для культивирования этого грибка.

Всесоюзный институт
сельскохозяйственной микробиологии.
Ленинград.

ЛИТЕРАТУРА

1. Конокотина А. Г., Савшинская Л. В. и Шульц Г. Э., Труды Всесоюзного института с.-хоз. микробиологии, V, 142—151, 1933.
2. Красильников Н. А., Известия Академии наук СССР, 1933.
3. Красильников Н. А., Известия Академии наук СССР, 1934 г., 335—366.
4. Lindner P., Abderhalden's Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden, 19.. 1924.
5. Мейсель М. Н., Микробиол. журн., 8, 1923.
6. Мейсель М. Н., Известия Акад. Наук СССР, 9, 1932, 1337.
7. Надсон Г. А. и Конокотина А. Г., Известия Глав. Ботан. Сада. Приложение 1, 1923.
8. Надсон Г. А. и Кудрявцев В. И., Микробиол. журн., V, 1927, 165—169.
9. Надсон Г. А., Филиппов Г. С., Вестн. Рентгенол. Радиол., III, 1925, 305.
10. Надсон Г. А., Филиппов Г. С. Вестн. Рентгенол. Радиол., X, 1932, 275—299.
11. Надсон Г. А., Рохлина Э. Я., Вестн. Рентгенол. Радиол., VI, 1932, 239—254.
12. Надсон Г. А., Рохлина Э. Я., Бродильная Промышленность, IV, 20, 1932.
13. Надсон Г. А., Экспериментальное изменение наследственных свойств микроорганизмов. Изд. Академии Наук СССР, Москва — Ленинград, 1935, также в общ. отчете Акад. Наук, за 1934.
14. Филиппов Г. С., Вестник Рентгенол. и Радиол., X, 1932, 512—545.

A. G. KONOKOTINA UND L. V. SAVSCHINSKAJA. RASSENSPALTUNG BEI DEM PILZ *ENDOMYCES VERNALIS* LUDW. UND VERDRÄNGUNG EINER RASSE DURCH DIE ANDERE

ZUSAMMENFASSUNG

Der «Fetthefepilz» *Endomyces vernalis* Ludw. ergibt sehr leicht eine Rasse spaltung [beim Austrocknen des Mediums, bei Einwirkung wechselnder Temperaturen (von +10 bis —10°) und unter dem Einfluss de Zusammensetzung des Mediums].

Bei der Spaltung erhielten wir drei Rassen:

1) Die «glänzende» Rasse ergibt einen glänzende Schicht auf Agarnährboden und macht Gelatine am 2—3-ten Tag flüssig. Das mikroskopische Bild zeigt hauptsächlich Oidien und hefeähnliche Zellen mit grossen Fettropfen (Fig. 2, *A*).

2) Die «matte» Rasse ergibt einen matten, etwas runzligen Schicht auf Kartoffelagar. Gelatine wird erst nach einmonatlicher Entwicklung der Kultur verflüssigt. Unter dem Mikroskop ist hauptsächlich Mycel mit einer geringen Fettmenge zu sehen. Oidien kommen seltener vor. Die Kultur wächst in das Substrat ein (Fig. 2, *B*).

3) Die «borstige» Rasse ist auf Kartoffelagar matt, leicht gerunzelt, an der Oberfläche mit Börstchen versehen. (Fig. 2, *C*). Gelatine wird in 3 Wochen alter Kultur verflüssigt.

Alle drei Rassen sind Konstant und behalten ihre Eigenschaften lange Zeit bei Kultur auf Kartoffelagar. Die glänzende und die matte Rassen bleiben schon zwei Jahre unverändert. Die borstige Rasse hat ein Alter von 13 Jahren.

Im Laboratorium tritt mit der Zeit eine Spaltung der ursprüglichen Rasse in die glänzende und matte ein, und da die glänzende Rasse weniger stabil ist als die matte, so kann nach wiederholter Aussat die glänzende Rasse verloren gehen. Nunmehr wird sich nur die matte Rasse entwickeln und es tritt sogenannte Degeneration der Kultur im Laboratorium ein. Eine solche Degeneration trat während der Jahre 1918—1931 mehrmals ein. Die von neuem isolierte Fetthefe mit hohem Fettgehalt in den Zellen wurde mit der Zeit mycelial und fettarm.

Beim Züchten des Pilzes auf Kartoffelagar und auf Agar mit Birkensaft tritt eine derartige Degeneration nicht ein, daher, empfiehlt es sich, im Laboratorium die Fetthefen auf Kartoffelagar zu kultivieren.

ИЗВЕСТИЯ АКАДЕМИИ НАУК СССР. 1936
BULLETIN DE L'ACADÉMIE DES SCIENCES DE L'URSS
Classe des sciences mathématiques et naturelles
Отделение математических и естественных наук

Ю. П. МИРЮТА

К ГЕНЕТИКЕ ПОЛА У РАСТЕНИЙ

(Экспериментировано на *Spinacea oleracea* L.)

(*Представлено академиком* **Н. И. Вавиловым**)

В качестве методического объекта для изучения пола у растений был использован шпинат—*Spinacea oleracea* L. Развитие и превращение половых признаков исследовалось при воздействии различных факторов внешних условий: длины дня, элементов питания, выращивания в оранжерее в открытом грунте. Эти исследования показали, что признаки пола у *Spinacea oleracea* устойчивы к влиянию внешних условий, но требуют для своего выявления наличия определенных условий температуры, влажности и продолжительности дня.

Произведенные скрещивания обнаружили большое разнообразие в расщеплении первого поколения и указали на генетическую сложность признаков пола у *Spinacea oleracea*, обусловленную не только большим числом генов, но и более глубокими, может быть, структурными и качественными различиями между мужскими гаметами.

Последние работы Dobrzhansky (1), Winge (2, 3) и др. в определении числа, действия и местоположения генов, определяющих пол, еще больше увеличивают громадный интерес к раскрытию механизма наследования такого биологически значимого признака, как пол организма.

С изучением наследования пола связано изучение наследования сцепленных с полом, очень существенных для организма признаков, таких, как мощность развития, морфология различных органов, анатомическое строение, вегетационный период, плодоношение организмов и пр. Управление полом организмов часто совпадает с управлением этими, сцепленными с полом, признаками и поэтому у культурных животных и растений имеет определенный производственный интерес.

Крупнейшие достижения по полу многим обязаны лучшим методическим объектам, обеспечивающим темп и масштабы работы. Такими объектами среди животных являются *Drosophila*, *Lebistes* и др.

Среди растений несколько труднее выбрать хороший методический объект, и в результате наших поисков был избран *Spinacea oleracea* L., обладающий следующими качествами: 1) очень большим разнообразием по признакам пола; 2) небольшим числом хромосом ($n = 6$); 3) резким

различием в морфологии всех хромосом; 4) устойчивостью к влиянию внешних условий в развитии признака пола; 5) малыми размерами растений: на 1 м² можно вырастить 200—300 растений и 6) коротким вегетационным периодом, укладывающимся в два месяца при выращивании в условиях длинного дня. Этими своими качествами шпинат привлекает и других исследователей среди генетиков, например Нада (4).

Обнаруженные нами в мировой коллекции Всесоюзного института растениеводства однодомные формы *Sp. oleracea* для генетического анализа и изучения влияния внешних условий по наличию на одном растении типов цветков и их соотношению, расклассифицированы следующим образом:

I группа

1) ♂ цв.—90%, ⚥-I цв.—10%;
2) ♂ » —70%, ⚥-I » —30%;
3) ♂ » —30%, ⚥-I » —70%;

II группа

4) ♂ цв.—60%, ⚥-I цв.—25%; ⚥-II —10%, ♀ » — 5%;
5) ♂ цв.—30%, ⚥-I » —20%; ⚥-II —20%, ♀ » —30%;
6) ♂ цв.—15%, ⚥-I цв.—10%; ⚥-II —20%, ♀ » —55%

III группа

7) ♂ цв.—70%, ♀ цв. —30%;
8) ♂ » —40%, ♀ » —60%;
9) ♂ » —10%, ♀ » —90%

⚥-I — гермафродитные цветки с нормально развитым андроцеем и слабо развитым гинецеем.

⚥-II — гермафродитные цветки с нормально развитым гинецеем и слабо развитым андроцеем.

Для выявления условий наилучшего развития и превращения признаков предварительно перед генетическим анализом предпринята работа по выяснению влияния ряда факторов внешних условий.

1. Длина дня. Изучалось развитие признаков пола при длине дня в 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, и 24 часа. Установлено развитие цветков на растениях при длине дня в 14 час. через 61.38 дней от всходов, 15 час. через 29.20 дней, 16 час. через 25.4 дня, 17 час. через 22.9 дней, 24 час. через 23.8 дня. При длине дня от 5 до 13 час. образование цветочного стебля и цветков, а следовательно, и признаков пола не происходит совершенно. Для выяснения последействия короткого дня (5—13 ч.), после воздействия в течение 70 дней, с тем чтобы вызвать цветение, растения были перенесены в условия непрерывного дня, где независимо от предшествовавшей длины дня, они образовали цветочные стебли и цветки одновременно, в среднем через 20 дней. Во всех вариантах по длине дня

изучались по 40 растений и отношение мужских растений к женским в каждом из них приближалось к отношению 1:1, с отклонениями в пределах достоверности. В исследование была взята чисто двудомная раса, и ни одна из примененных длин дня не вызвала образования однодомных растений.

2. Элементы питания. Исследование было построено по восьмерной схеме трех элементов: O, N, P, K, NP, NK, PK, NPK и проведено в вегетационных сосудах. По всей схеме проведены оптимальная и максимальная дозы. По всей схеме и дозам проведены два варианта сроков внесения: в два срока через каждые 10 дней и в четыре срока, также через каждые 10 дней, причем третий срок приходился на время перед цветением и четвертый — во время цветения. В результате получена большая разница по элементам, срокам и дозам в развитии вегетационной массы растений и во времени образования цветочных стеблей и цветения, но отношение мужских растений к женским оставалось близким к 1:1, с отклонениями в пределах достоверности. Однодомных растений везде встречалось нормальное для исследуемой расы число. Сосудов и растений по каждой вариации было 25.

3. Комплекс условий оранжереи и открытого грунта. Одни и те же образцы разного происхождения одновременно (июнь — июль) выращивались в оранжерее и в открытом грунту. Суммированные по образцам результаты, приведенные в табл. 1, показывают сильное увеличение процента однодомных растений I группы за счет мужских растений и некоторое увеличение II группы за счет III группы. Процент женских растений остается постоянным. Это показывает, что однородные по внешнему виду мужские растения в открытом грунту проявили себя, как различные в условиях оранжереи. Можно допустить, что развитие генетически обусловленных гермофродитных цветков I группы осуществляется полностью лишь в условиях защищенных от резких изменений условий температуры, т. е. при отсутствии низких минимумов, но здесь также может иметь значение повышенная влажность воздуха, присущая условиям оранжереи. В результате последующего генетического анализа, растения I группы оказываются генетически отличными от мужских.

Таблица 1

Пол / Условия выращивания	♂	Однодомные			♀	% однодомных	n
		I	II	III			
Открытый грунт $T = 29 - 9°$	51.3	1.9	2.0	3.0	41.9	6.8	169
Оранжерея $T = 38 - 14°$	37.7	16.4	6.0	1.9	38.0	24.3	392

Уже эти предварительные исследования показывают, что признаки пола у *Sp. oleracea* устойчивы к влиянию внешних условий, но полностью выявляются лишь при определенных условиях. Влияние ус-

Пол родительских растений			П о л п е р			
			I			
Пол отцовских	Пол материнских	♂	1	2	3	4
1. I—1 . . .	× ♀♀ ..., III—9	36.5 ± 1.93	63.5 ± 1.93	—	—	—
2. I—1 . . .	× ♀♀ ...,	54.0 ± 2.08	46.0 ± 2.08	—	—	—
3. I—2 . . .	× ♀♀ ...,	—	—	50.0 ± 2.15	—	—
4. II—4 . . .	× ♀♀ ..., II—4, III—9	—	—	—	—	50.7 ± 4.16
5. II—5 . . .	× ♀♀ ..., II—5, III—9	—	—	—	—	—
6. II—6 . . .	× ♀♀ ..., II—6	—	—	—	—	—
7. III—8 . .	× ♀♀ ..., III—8	—	—	—	—	—
8. III—8 . .	× ♀♀ ..., III—8	—	—	—	—	—
9. III—8 . . .	× ♀♀ ..., III—8, III—9	—	—	—	—	—
10. III—9 . . .	× ♀♀ ..., III—9	—	—	—	—	—
11. III—9 . .	× ♀♀ ..., III—9	—	—	—	—	—

ловий затенения растений, площади питания и других условий питания у *Sp. oleracea* изучал Rosa (5) и в своих экспериментах пришел к полному отрицанию изменения полового отношения.

Гибридизация. В табл. 2 приводим результаты скрещивания методом изолированных площадок разных половых типов с женскими растениями, с растениями III—9, а также от самоопыления отцовских растений. В каждом скрещивании участвовали 4—5 женских материнских растений, взятых из различных географических рас. $M \pm m$ вычислено по поколениям от разных материнских растений и самоопыления отцовских. Анализ поколений всех участвовавших в одном и том же скрещивании, разных по полу материнских растений отдельно, дал одинаковые результаты независимо от пола и географического происхождения их. Это указывает на генетическую однородность всех женских гамет, образовавшихся в женских и гермофродитных женского типа цветках, независимо от пола растения, на котором они образовались.

Примененный нами метод непосредственного сравнения родителей

и потомков (отцовские растения гербаризировались) дал возможность уловить даже незначительную разницу в количественном соотношении цветков разных типов. Поэтому постоянное сходство половины поко-

Таблица 2

вого поколения $M \pm m$ % особей						
II		III			♀	*n*
5	6	7	8	9		
—	—	—	—	—	—	73
—	—	—	—	—	—	52
—	—	—	—	—	50.0 ± 2.15	92
—	—	—	—	—	49.3 ± 4.16	66
55.2 ± 4.92	—	—	—	—	44.8 ± 4.92	90
—	52.7 ± 4.56	—	—	—	47.3 ± 4.56	166
—	—	22.3 ± 5.73	77.7 ± 5.73	—	—	142
—	—	—	100.0 ± 0.00	—	—	102
—	—	—	100.0 ± 0.00	—	—	154
—	—	—	55.0 ± 2.51	45.0 ± 2.51	—	74
—	—	—	—	100.0 ± 0.00	—	27

ления с отцовскими растениями (табл. 2) дает основание намеченные нами по морфологическим признакам половые подгруппы считать различными и генетически.

Наблюдающееся большое разнообразие в расщеплении первого поколения от произведенных скрещиваний указывает на генетическую сложность признака пола у *Sp. oleracea*, определяющуюся большим числом генов.

Полученные расщепления в F_1, отсутствие различий среди женских гамет растений разных половых групп, а также сходство половин растений F_1 с отцовскими растениями, приводит к заключению о генетической разнородности по признакам пола мужских гамет независимо от пола растения, на котором они образовались.

Результаты произведенных и представленных на этой таблице скрещиваний, кроме этого по характеру расщепления разделяются на 4 группы: 1) скрещивания с расщеплением на отцовские и чисто мужские растения; 2) с расщеплением на отцовские и чисто женские растения; 3) с расщеплением на отцовские и ближайшую подгруппу одно-

домных растений; 4) с полным наследованием отцовского типа без расщепления. Такие глубокие различия в расщеплении F_1 как расщепления на отцовские и мужские, отцовские и женские, и отсутствие расщепления указывают на различия между мужскими гаметами не только в количестве тех или иных генов, но и более глубокие, может быть, структурные и резко отличные качественно. Особое внимание привлекает группа растений I—1, которая от скрещивания ее с женскими растениями в поколении исключает появление женских и близких к женским растений и расщепляется на отцовские и мужские.

Случаи отсутствия расщепления в F_1 легче могут быть объяснены структурной гетерогаметностью, хотя не исключена возможность и гомогаметности отцовских растений, не дающих расщепления в F_1.

Для решения этих вопросов необходимо изучение второго поколения одновременно с тщательным цитологическим изучением отцовских растений для определения участия в этом транслокаций и дефишенси, а также изучения участия кроссинговера. Цитологическое изучение однодомных форм *Sp. oleracea* интересно еще и потому, что ни мужские, ни женские растения не имеют гетерохромосомной пары (4).

Выводы

1. *Spinacea oleracea* L. — удобный методический объект для изучения пола у растений.

2. Согласно анализу F_1 и изучению влияния внешних условий большое морфологическое разнообразие половых форм *Sp. oleracea* генетически обусловлено, и в определении пола участвует большое число генов, определяющих пол.

3. Генетически одинаковыми по признакам пола являются женские гаметы женских и гермофродитных женского типа цветков независимо от пола растения, на котором они образовались.

4. Генетически различными по признакам пола являются мужские гаметы независимо от пола растения, на котором они образовались, исключая однодомные III группы, у которых гетерогаметность наблюдается не всегда.

5. Возможно получение константных форм, дающих женские и однодомные растения в отношении 1 : 1, с полной константностью однодомной формы по признакам пола. В F_1 возможно получение растений только мужских и однодомных (близких к мужским), всех однодомных с расщеплением на две однодомные подгруппы и всех однодомных без расщепления.

6. При генетическом анализе признаков пола у *Sp. oleracea* главное внимание при выращивании растений должно быть обращено на условия температуры и влажности, с которыми связано выражение признаков пола.

ЛИТЕРАТУРА

1. Dobrzhansky T., J. of Gen., v. 28, No 3, 1934.
2. Wigne O., Proceed. of the 6-th Intern. Congr. of Genetics, v. 1, 1932.
3. Winge O., C. R. d. trav. d. Lab. Carlsberg, S. Phys., Copenhague, v. 21, No 1.
4. Haga, Tutomu, Jap. Gen. Journ., v. 10, No 3—4, 1935.
5. Rosa, Hilgardia, v. 1., No 12, 1925.

J. P. MIRYUTA. A CONTRIBUTION TO THE GENETICS OF SEX IN PLANTS

SUMMARY

The study of sex inheritance is closely bound up with a study of the inheritance of such very vital, sex-linked characters as vigour of development, morphology of different organs, anatomical structure, vegetative period, fruit-bearing ability, etc. Control over the sex of an organism often involves control over these sex-linked characters, and, consequently, is of great economic importance, in the case of cultivated plants and domesticated animals.

Among plants it is somewhat more difficult to select suitable material. *Spinacea oleracea* L. was chosen for our experiments, because it possesses the following qualities: 1) very great diversity as regards sex characters; 2) small chromosome number ($n=6$); 3) marked morphological differences between the chromosomes; 4) insusceptibility to the influence of external conditions in the development of sex characters; 5) small size of plant (on one square metre 200—300 plants may be grown); and 6) short vegetative period, not exceeding two months, when grown under conditions of a long day.

In order to ascertain the most favourable conditions for the development and transformation of sex characters, prior to genetic analysis preliminary research was conducted on the effect of various external factors: 1) Length of Day. 2) Nutritive Factors. 3) Greenhouse vs. Field Conditions.

The preliminary experiments showed that sex types in *Sp. oleracea* are not controlled by environment, but that they come to full development only under certain environmental conditions.

Hybridization Experiments. In Table 2 are given the results of crosses (using isolated plots) between plants of different sex types and female plants or monoecious III — 9 plants, and also of self-pollination of paternal plants.

The method used of direct comparison of parents and progeny (herbarium specimens have been made of the paternal plants) made it possible to detect even slight quantitative differences in flowers of different types.

The character of segregation in F_1, the absence of differences between female gametes from plants belonging to different sex groups, and

also the fact that half of the F_1 plants resemble the paternal plants leads us to the conclusion that the male gametes differ genetically as regards sex, irrespective of the sex type of the plant on which they are formed.

Conclusions

1. *Spinacea oleracea* L. constitutes suitable material for the study of sex in plants.

2. From an analysis of F_1 and a study of the effect o' environment on sex expression in this plant it appears that the great morphological diversity of sex types in *Sp. oleracea* is of genetic origin, a large number of genes participating in sex determination.

3. Female gametes produced by female flowers and by hermophrodite flowers of female type are genotypically identical as regards sex determination, regardless of the sex type of the plant on which they are formed.

4. Male gametes differ genotypically as regards sex determination, irrespective of the sex type of the plant on which they are formed, with the exception of the monoecious — III group, in which heterogamy is not always observed.

5. It is possible to obtain constant forms, producing female and monoecious plants in a 1 : 1 ratio, with complete constancy of the monoecious type as regards sex characters. In the F_1 it is possible to obtain: male and monoecious (near-male) plants, all monoecious plants with segregation into two monoecious subgroups, and all monoecious plants without segregation.

6. In a genetic analysis of sex characters in *Sp. oleracea* chief attention should be directed to the temperature and moisture conditions under which the plants are grown, since these conditions affect sex expression.

Оглавление

SOMMAIRE

Техредактор Е. Шнобел

Сдано в набор 15/VI 1936 г. Подп. к печ. 16/X 1936 г. $14^{1}/_{4}$ печ. л. 45.760 зн. в п. л.
Уполн. Главлита В-46793 Тираж 2.300 экз. АНИ № 326. Зак. 83

18 типография «Полиграфкнига», Москва, Шубинский п., д. 10